

**Aus der 3. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Zentrums
für Innere Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Leiter: Prof. Dr. K. Federlin**

Der Einfluß von enterohormonalen sowie hereditären und nutritiven Faktoren auf die Biosynthese und Sekretion von Insulin

INAUGURAL-DISSERTATION

**zur Erlangung des Doktorgrades bei dem Fachbereich
Ernährungswissenschaften der Justus-Liebig-Universität
Gießen**

vorgelegt von

**Dipl. oec. troph. Rita Schäfer-Spiegel, geb. Schäfer,
aus Hünfeld**

Gießen 1979

Aus der 2. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Zentrums
für Innere Medizin der Johann-Liebig-Universität Gießen
Leiter: Prof. Dr. K. Faderl

Der Einfluß von enterohormonalen sowie hereditären und nutritiven Faktoren auf die Biosynthese und Sekretion von Insulin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades bei dem Fachbereich
Ernährungswissenschaften der Johann-Liebig-Universität
Gießen

Dr. rer. med. Peter Peter-Schneider, geb. Schneider,
geb. 1949

https://archive.org/details/IA41552619_0027

**Aus der 3. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Zentrums
für Innere Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Leiter: Prof. Dr. K. Federlin

Der Einfluß von enterohormonalen sowie hereditären und nutritiven Faktoren auf die Biosynthese und Sekretion von Insulin

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades bei dem Fachbereich
Ernährungswissenschaften der Justus-Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von

Dipl. oec. troph. Rita Schäfer-Spiegel, geb. Schäfer,
aus Hünfeld

Gießen 1979



Dekan : Prof. Dr. W. Kübler

1. Berichterstatter : Prof. Dr. H. Schatz

2. Berichterstatter : Prof. Dr. W. Kübler

Tag der mündlichen Prüfung : 23.10.1979

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	8
2.1. Gastrointestinale Hormone und endokrines Pankreas	8
2.1.1. Einführung	8
2.1.2. Gastric inhibitory polypeptide	9
2.1.3. Andere gastrointestinale Hormone	12
2.2. Diabetesmodelle bei Mäusen	14
2.2.1. Gelbe fettsüchtige Maus	16
2.2.2. Obesitas Maus	17
2.2.3. Diabetes Maus	18
2.2.4. Adipositas Maus	19
2.2.5. Japanische fettsüchtige Maus	19
2.2.6. Neuseeländische fettsüchtige Maus	20
2.2.7. Linie gg-diab	21
2.3. Diabetes und Ernährungsfaktoren	23
3. MATERIAL UND METHODEN	26
3.1. Chemikalien	26
3.2. Tiere	28
3.2.1. Ratten	28
3.2.2. Mäuse	28
3.3. Allgemeine Methodik der Untersuchungen an Inseln in vitro	30
3.3.1. Isolation von Langerhansschen Inseln	30
3.3.2. Inkubation isolierter Inseln zum Studium der Biosynthese und Sekretion	31
3.3.3. Radioimmunologische Insulinbestimmung	32
3.3.4. Bestimmung des ^3H -Leucin-Einbaus	33
3.4. Spezielle Inkubationsschemata	35
3.4.1. Versuchsreihe A: Der Einfluß von GIP auf die Biosynthese und Sekretion von Insulin an isolierten Ratteninseln	35

3.4.2.	Versuchsreihe B: Der Einfluß von GIP auf die Insulinsekretion mit und ohne Aminosäuren im Medium	36
3.4.3.	Versuchsreihe C: Der Einfluß von GIP plus Glukagon auf die Insulinsekretion	37
3.4.4.	Versuchsreihe D: Biosynthese und Sekretion von Insulin an Inseln der Mäuselinien gg-diab bzw. gg-anti	37
3.4.5.	Versuchsreihe E: Biosynthese und Sekretion von Insulin an Inseln der Mäuselinien gg-diab bzw. gg-anti nach kohlenhydratreicher Diät	38
3.5.	Blutentnahmen bei den Mäusen	39
3.6.	Glukosebestimmung im Urin	39
3.7.	Bestimmung der Glukosekonzentration im Blut	40
3.8.	Bestimmung des Proteingehalts der Mäuseinseln	40
3.9.	Serumcholesterinbestimmung	41
3.10.	Bestimmung der Triglyceride	41
3.11.	Statistik	42
4.	ERGEBNISSE	43
4.1.	Wirkungen von GIP auf Langerhanssche Ratteninseln	43
4.1.1.	Der Einfluß von GIP auf die Biosynthese und Sekretion (Versuchsreihe A)	43
4.1.2.	Der Einfluß von GIP auf die Insulinsekretion mit und ohne Aminosäuren (Versuchsreihe B)	47
4.1.3.	Der Einfluß von GIP plus Glukagon auf die Insulinsekretion (Versuchsreihe C)	47

	Seite
4.2. Studien an der gg-diab Maus	51
4.2.1. Insulinbiosynthese und -sekretion (Versuchsreihe D)	51
4.2.2. Fütterungsversuch	55
4.2.2.1. Körpergewicht	55
4.2.2.2. Blutzucker	55
4.2.2.3. Seruminsulin	58
4.2.2.4. Uringlukose	58
4.2.2.5. Cholesterin und Triglyceride	60
4.2.2.6. Funktion der Inseln nach kohlen= hydratreicher Diät (Versuchs= reihe E)	62
5. DISKUSSION	65
5.1. Gastric inhibitory polypeptide	65
5.2. gg-diab Maus	71
6. ZUSAMMENFASSUNG	80
7. LITERATURVERZEICHNIS	83

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Mit der Entdeckung des Insulins durch BANTING und BEST im Jahre 1921 schien die Frage nach der Ursache des Diabetes mellitus vorerst geklärt zu sein: Der Diabetes mellitus konnte als eine Krankheit angesehen werden, die durch eine eingeschränkte bzw. fehlende Hormonproduktion des endokrinen Pankreas hervorgerufen wurde.

Die Forschungsergebnisse der folgenden Jahrzehnte ließen jedoch erkennen, daß nicht immer eine absolute Verminderung der Insulinproduktion die Ursache dieser Krankheit sein kann.

Der Diabetes mellitus ist eine Erkrankung, deren Symptome durch einen Mangel an Insulinwirkung erklärt werden können. Je nach Ursache dieses Mangels unterscheidet man verschiedene Formen des Diabetes:

1. Genuiner Diabetes (Juveniler Diabetes, Erwachsenendiabetes)
2. Sekundäre Diabetesformen wie Pankreatopräver Diabetes (z.B. nach chronischer Pankreatitis) und Diabetes bei endokrinen Erkrankungen (z.B. Cushing-Syndrom)

Der genuine Diabetes mellitus ist eine Erbkrankheit. Die Mehrzahl der Genetiker nimmt heute eine multifaktorielle Vererbung des Diabetes an, d.h., daß nicht ein einzelnes Gen die Krankheit bestimmt, sondern daß eine Abnormalität mehrerer Gene die genetische Grundlage des Diabetes mellitus determiniert, wobei Unterschiede zwischen

dem Diabetes vom juvenilen Typ und vom Erwachsenenentyp bestehen.

Beim Diabetes vom jugendlichen Typ kommt es bald nach Durchlaufen einer mehr oder weniger kurzen Remissionsphase zu einem absoluten oder zumindest ausgeprägten Insulinmangel. In der klinischen Anfangsphase der Krankheit beträgt die Zahl der Betazellen nur noch 10 Prozent oder weniger des Normalen. Mit der Zeit verschwinden die Betazellen im Pankreas juveniler Diabetiker zunehmend (GEPTS 1965), nach neueren Befunden können jedoch nach Jahrzehnten immer noch Betazellen nachgewiesen werden (GEPTS und DE MEY 1978)

Im Gegensatz zum Diabetes vom jugendlichen Typ besteht beim Erwachsenen-Diabetes ein relativer Insulinmangel, der in der Regel erst in fortgeschrittenem Alter klinisch erkennbar wird, jedoch schon lange Zeit vorher als latenter Diabetes ausgeprägt sein kann. Bei älteren Diabetikern bleiben die Betazellen auch nach einer langen Krankheitsdauer vorhanden. Ihre Zahl beträgt jedoch nur noch 40 bis 50 Prozent des Normalen (MACLEAN und OGILVIE 1955).

Beim Übergewichtigen Erwachsenenendiabetiker ist das Plasmainsulin sogar gegenüber dem normgewichtigen Stoffwechselgesunden erhöht.

Während beim Gesunden aber das Seruminulin nach Glukosegabe ansteigt, kommt es beim Altersdiabetiker durch Glukose nicht zu einer zeitgerechten Insulinfreisetzung, sondern zu einer verzögerten, länger anhaltenden Insulinsekretion. Diese Beobachtung zeugt von der sogenannten "Sekretionsstarre", die in der Pathogenese des Altersdiabetes eine wichtige Rolle spielt.

Während beim juvenilen Diabetiker die Substitution des Insulins nötig ist, sind beim Altersdiabetiker oft schon diätetische Maßnahmen, welche bei Übergewicht auch eine Gewichtsreduzierung zu bewirken haben, oder zusätzliche Verabreichung von Sulfonylharnstoffen (PFEIFFER et al. 1961) ausreichend, um den Blutzuckerspiegel zu normalisieren.

Die Erforschung des Diabetes ist heute wichtiger als je zuvor, denn der Diabetes stellt fast schon eine "Volkskrankheit" dar, die im Hinblick auf die ständig steigende Kalorienzufuhr sicherlich weiter zunehmen wird.

MEHNERT et al. (1968) führten 1967 in München eine Früherfassungsaktion auf Diabetes mellitus durch. Bei der Auswertung ergab sich, daß 2% der Bevölkerung an einem bereits manifesten Diabetes mellitus leiden und daß noch 7% mit einem noch unentdeckten manifesten Diabetes hinzukommen dürfte.

Bei der Erforschung des Diabetes mellitus müssen unter anderen folgende Gesichtspunkte ins Auge gefaßt werden:

a) Die Beobachtung, daß nach intraduodenaler Verabreichung von Glukose der Plasmainsulinspiegel stärker ansteigt als nach intravenöser Gabe (MC INTYRE et al. 1965) führt zu der Frage: Welche Rolle spielen Hormone, insbesondere gastrointestinale Hormone bei der Regulation der Insulinbiosynthese und -sekretion?

Die Forschungen der letzten Jahre haben gezeigt,

daß bis auf die insulinbildenden Zellen alle bis jetzt bekannten endokrinen Pankreaszellen auch in der Magen-Darmmukosa vorhanden sind. Man kann demnach das endokrine Pankreaszellsystem nicht länger als ein funktionell autonomes Ganzes betrachten, sondern als ein endokrines Netzwerk, das über Magen-Darmmukosa und Pankreas verbreitet ist. GEPTS (1977) folgerte daraus, daß der Diabetes mellitus nicht mehr als Folge des Sekretionsausfalls eines einzelnen Hormons betrachtet werden kann, sondern vielmehr als komplexe Störung, an der mehrere Zelltypen des "enteropankreatischen Zellsystems" beteiligt sind.

Ein Hormon, das in der entero-insulären Achse (UNGER und EISENTRAUT 1969) wahrscheinlich eine wichtige Rolle spielt, ist das "gastric inhibitory polypeptide" (=GIP =glucose-dependent insulin-releasing polypeptide), das BROWN et al. (1969) entdeckten.

In der vorliegenden Arbeit sollte unter dem vorher genannten Gesichtspunkt geprüft werden, ob GIP nur die Sekretion stimuliert, was sowohl in vivo (DUPRE et al. 1973, TURNER et al. 1974a, TAMINATO et al. 1977) als auch in vitro (DUPRE et al. 1973, SCHAUDER et al. 1975, 1977, PEDERSON und BROWN 1976, HAFFEN et al. 1977, FUJIMOTO et al. 1978) nachgewiesen ist, oder auch die Biosynthese von Insulin beeinflußt.

Strukturelle Ähnlichkeiten von GIP mit Glukagon ließen vermuten, daß beide Hormone die gleichen Rezeptoren der Betazelle besetzen. Um diese Hypothese zu testen, sollte der insulinfreisetzende Effekt von GIP an isolierten Langerhansschen

Ratteninseln in Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Glukagon getestet werden.

In einer weiteren Versuchsreihe sollte geklärt werden, ob die Wirkung von GIP auf die Insulinsekretion Langerhansscher Inseln durch das Vorhandensein von Aminosäuren verstärkt wird, da durch Aminosäuren die Insulinsekretion, ähnlich wie durch Glukose, direkt stimuliert wird (MALAISSE und MALAISSE-LAGAE 1968).

b) Welche Rolle spielen genetische und Ernährungsfaktoren in der Pathogenese des Diabetes mellitus?

Um dieser Frage nachzugehen, wurden seit langem in der experimentellen Diabetesforschung Tierstämme gezüchtet, die entweder dem Typ des beginnenden menschlichen Altersdiabetes mit Adipositas oder dem Typ des jugendlichen Insulinmangeldiabetes ähneln. Diese Tiermodelle ermöglichen gezielte Untersuchungen zur Pathogenese und Therapie des Diabetes mellitus beim Menschen. Die bekanntesten Tiermodelle für einen menschlichen Altersdiabetes sind die gelbe fettsüchtige Maus, die Obesitas-Maus, die Diabetes-Maus und die Adipositasmaus. Auch die Sandratte entwickelt ein Syndrom, das dem menschlichen Altersdiabetes vergleichbar ist, wenn sie aus ihrer natürlichen Umgebung von einer pflanzlichen Nahrung mit relativ geringem Nährwert auf eine ad libitum gegebene Standarddiät umgestellt wird (HACKEL et al. 1967, MIKI et al. 1967). Ein bekanntes Tiermodell für den Insulinmangeldiabetes ist der Chinesische Hamster (MEIER und YERGANIAN 1959).

Im Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover wurde seit 1970 auf selektions=genetischem Wege versucht, ein Insulinmangelmodell der Maus zu züchten. Der relative Insulinmangel des Stammes gg-diab bewirkt hier nur einen latenten Diabetes, der durch eine hereditär bedingte Hemmung der Insulinfreisetzung hervorgerufen wird (GÄRTNER 1976)

An den Tiermodellen können die Wechselbeziehungen zwischen einer erblichen Disposition und exogenen Faktoren untersucht werden. Es kann besonders der Einfluß von diätetischen Maßnahmen auf den Manifestationszeitpunkt und das Ausmaß einer genetisch determinierten Stoffwechselentgleisung geprüft werden (HERBERG et al. 1976).

In der vorliegenden Dissertation sollten weitere Teilaspekte zur Pathogenese des Diabetesmodells gg-diab untersucht werden:

Es sollte zunächst das Biosynthese- und Sekretionsverhalten isolierter Langerhansscher Inseln von ca. 100 Tage alten Mäusen der Linie gg-diab und deren Kontrolle gg-anti in vitro geprüft werden. Außerdem sollten Protein- und Insulingehalt der Inseln bestimmt werden.

Weiterhin schien es interessant, den Einfluß eines diabetogenen Nahrungsfaktors, wir wählten hierfür saccharosereiches Futter (COHEN und TEITELBAUM 1964, LAUBE et al. 1972), auf die Stoffwechselparameter Blutzucker, Blutinsulin, Gewicht, Uringlukose Cholesterin und Triglyceride während eines achtwöchigen Fütterungsversuchs zu untersuchen. Am Ende des Versuchs sollte das Biosynthese- und

Sekretionsverhalten der isolierten Langerhansschen Inseln getestet werden.

Über all diesen Untersuchungen stand die Frage, ob der latente Diabetes der Mäuse der Linie gg-diab durch saccharosereiche Fütterung klinisch manifest wird.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. GASTROINTESTINALE HORMONE UND ENDOKRINES PANKREAS

2.1.1. EINFÜHRUNG

Seit langem ist bekannt, daß das Pankreas unterschiedlich reagiert, je nachdem, ob Glukose intravenös oder oral appliziert wird. Aufgrund der Beobachtung, daß der Blutzuckerspiegel bei oraler Glukosezufuhr schneller abfällt als bei intravenöser Gabe (ARNOULD et al. 1963, MC INTYRE et al. 1964) und daß nach intraduodenaler Verabreichung von Glukose der Plasmainsulinspiegel stärker ansteigt als nach i.v. Gabe (ELRICK et al. 1964, MC INTYRE et al. 1965) postulierten die Autoren bereits damals, daß ein Hormon des Gastrointestinaltrakts während der Glukoseresorption freigesetzt wird, das dann die Insulinsekretion zusätzlich stimuliert. Untersuchungen von RAPTIS et al. (1973) zeigten, daß auch die orale Gabe von Aminosäuren den Insulinspiegel stärker erhöhte als die intravenöse Applikation. Nicht nur Zucker und Aminosäuren, sondern auch Fette können die von UNGER und EISENTRAUT (1969) beschriebene Reaktionskette der enteroinsulären Achse in Gang bringen (CARROLL und NESTEL 1972, KISSING et al. 1973)

Seit LA BARRE (1930) den Begriff "Inkretin" für den insulinfreisetzenden Faktor der Darmmukosa prägte, wurde eine Vielzahl von Arbeiten publiziert, die den Einfluß der intestinalen Hormone auf die Insulinsekretion in vitro und in vivo bei Tieren wie auch beim Menschen untersuchten

(PFEIFFER und RAPTIS 1968, PFEIFFER 1969, UNGER und EISENTRAUT 1969, PFEIFFER et al. 1973)

2.1.2. GASTRIC INHIBITORY POLYPEPTIDE

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) wurde bei der Reinigung von Cholezystokinin gefunden (BROWN et al. 1969, 1970). GIP ist ein Polypeptid mit 43 Aminosäuren und einem geschätzten Molekulargewicht von 5105 (BROWN 1972, BROWN und DRYBURGH 1971). GIP bildet zusammen mit Glukagon (Enteroglukagon), Sekretin und VIP (vasoactive intestinal peptide) die Glukagonfamilie. 15 der ersten 16 Aminosäuren von GIP entsprechen der Sequenz des Schweineglukagons, die ersten 9 befinden sich in derselben Position wie beim Sekretin.

GIP konnte im Duodenum und Jejunum lokalisiert werden (POLAK et al. 1973, BROWN et al. 1975). Vor kurzem wurde GIP auch im Inneren der Alpha-Zelle des Pankreas nachgewiesen (SMITH 1978).

Die gastrointestinalen Wirkungen von GIP sind neben der Hemmung der H^+ - und Pepsinsekretion des Magens (PEDERSON und BROWN 1972) eine Stimulation der intestinalen Sekretion (vgl. BROWN et al. 1975)

Die physiologischen Bedingungen unter denen GIP in die Blutbahn abgegeben wird, wurden von verschiedenen Autoren erforscht, nachdem KUZIO et al. (1974) ein Radioimmunoassay für GIP entwickelt hatten. Es konnte gezeigt werden, daß die Plasma-

GIP-Spiegel sofort nach Verabreichung von oraler Glukose (CATALAND et al. 1974, BOTHA et al. 1976, ANDERSON et al. 1976) oder auch von Fett (FALKO et al. 1975, PEDERSON et al. 1975, CROCKETT et al. 1976a) ansteigen. Bei Verabreichung von Protein wurde keine signifikante Erhöhung des Serum-GIP-Spiegels beobachtet (BROWN et al. 1975), jedoch konnte nach intraduodenaler Gabe eines Aminosäuregemisches (THOMAS et al 1976), bzw. nur Leucin (CLEATOR und GOURLAY 1975) ein signifikanter Anstieg der GIP Konzentration im Blut nachgewiesen werden.

Die stimulierende Wirkung von GIP auf die Betazellen des Pankreas wurde von zahlreichen Autoren sowohl in vivo (DUPRE et al. 1973, TURNER et al. 1974a,b, RABINOVITCH und DUPRE 1974, PEDERSON et al. 1975, TAMINATO et al. 1977, ANDERSON et al. 1978b) als auch in vitro (DUPRE et al. 1973, SCHAUDER et al 1975, 1977, HAFFEN et al. 1977, FUJIMOTO et al. 1978, PEDERSON und BROWN 1976) nachgewiesen.

Die experimentellen Untersuchungen haben also gezeigt, daß GIP die mit Glukose stimulierte Insulinsekretion potenziert, wobei das GIP von bestimmten endokrin aktiven Zellen der Dünndarmschleimhaut bei der Resorption von Glukose, Fett und Aminosäuren freigesetzt wird.

Da GIP also aktiv in die Regulation der Insulinfreisetzung beim Gesunden einzugreifen scheint, war es interessant, die Sekretion und die Wirkungen von GIP an Patienten mit Diabetes oder an Übergewichtigen Patienten mit normaler und pathologischer Glukosetoleranz zu untersuchen.

Erhöhte Serum-GIP-Spiegel nach oraler Glukosebelastung wurde bei allen (CROCKETT et al. 1976b, BROWN et al 1975, EBERT et al. 1976a, ROSS et al. 1977) bzw. bei einer Übergewichtigen Untergruppe (BLOOM 1975) von Patienten mit Diabetes mellitus beobachtet. Auch nach oraler Verabreichung von Galaktose fanden ROSS und DUPRE (1978) bei Diabetikern (nicht Insulin abhängig) einen erhöhten Serum-GIP-Spiegel.

Juvenile Diabetiker reagierten auf orale Glukose mit normalen GIP-Spiegeln (EBERT et al. 1976a). Auch Patienten mit chronischer Pankreatitis zeigten nach oraler Glukosebelastung bzw. nach einer Testmahlzeit erhöhte GIP-Werte (BOTHIA et al. 1976, EBERT et al. 1976b)

Aus den vorliegenden Ergebnissen folgerten BROWN et al. (1975) sowie CLEATOR und GOURLAY (1975), daß die GIP-Freisetzung möglicherweise durch den Insulinspiegel im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismuses kontrolliert wird.

Auch die Beobachtungen anderer Wissenschaftler (EBERT et al. 1976c, CREUTZFELDT et al. 1978, WILLMS et al. 1978) stützen den vermuteten Regelkreis zwischen GIP-produzierenden und Insulin-produzierenden Zellen.

CREUTZFELDT (1978) zeigte, daß fettsüchtige Probanden mit pathologischer Glukoseverwertung nach Verabreichung einer kohlenhydrathaltigen Testmahlzeit signifikant höhere Serum-GIP-Spiegel aufwiesen als die normalgewichtige Kontrollgruppe. CREUTZFELDT (1978) postulierte einen defekten Feedback von Betazelle und GIP-Zelle beim Fettsüchtigen, der darauf beruhen könnte, daß die durch GIP induzierte erhöhte Insulinkonzentration im Serum fettsüchtiger Patienten die Zahl der mit

Insulin reagierenden Rezeptoren aller Zellen, auch der GIP-Zellen, senkt.

Durch Fasten ist es möglich, die Mehrsekretion von GIP zu normalisieren (EBERT et al. 1976c, WILLMS et al. 1978), so daß durch eine mögliche Rekonstitution der Insulinrezeptoren die normale Funktion des Insulin-GIP-Feedback wiederhergestellt werden kann.

Diese Hypothese ist jedoch fraglich, da nach neueren Erkenntnissen ein Feedback-Mechanismus zwischen Seruminsulinspiegel und glukoseinduzierter GIP-Sekretion wahrscheinlich nicht existiert (ANDERSON et al. 1978, EBERT et al. 1978)

2.1.3. ANDERE GASTROINTESTINALE HORMONE

Die seit langem bekannten gastrointestinalen Hormone wie Gastrin, Enteroglukagon, Sekretin und Pankreozymin-Cholezystokinin wurden von zahlreichen Autoren in vivo und in vitro auf ihre insulinfreisetzende Wirkung geprüft. Es konnte gezeigt werden, daß alle diese Hormone zur Insulinsekretion beitragen können (siehe Übersichten PFEIFFER und RAPTIS 1968, CREUTZFELDT et al. 1970, CREUTZFELDT 1974, BROWN und PEDERSON 1977, BROWN und OTTE 1978).

Insgesamt sind die Berichte über die Wirkung von gastrointestinalen Hormonen auf die Insulinsekretion jedoch wenig übereinstimmend. Es existieren z.B. Diskrepanzen zwischen den Resultaten von in vivo - und in vitro- Studien mit Sekretin. Die in vivo und in vitro (PFEIFFER et al. 1965) erzielte insulinstimulierende Wirkung des Sekretins (DECKERT

1968, CHISHOLM 1969) konnte von manchen Autoren in vitro nicht bestätigt werden (SCHATZ et al. 1974) Auch mit Gastrin konnten SCHATZ et al. (1973a, 1974) keine signifikante Steigerung der Sekretion und Synthese von Insulin finden. Die Insulinssekretion wurde durch Pankreozymin-Cholezystokinin zwar gesteigert, die Insulinsynthese wurde jedoch nicht beeinflusst.

Zu den neueren, in den letzten Jahren beschriebenen Darmpeptiden, gehören neben dem "gastric inhibitory polypeptide" (GIP) noch das "vasoactive intestinal polypeptide" (VIP) das "intestinal insulin releasing polypeptide" (IRP), das Motilin, das "pancreatic polypeptide" u. a. (vgl. RAYFORD et al. 1976).

Die insulinstimulierende Wirkung ist außer für GIP auch für IRP (TURNER et al. 1974a,b) und VIP (OHNEDA et al. 1977, KANETO et al. 1977, SCHEBALIN et al. 1977) erwiesen.

Als Kandidaten für das immer noch gesuchte "Inkretin" (LA BARRE und STILL 1930) kommen von allen bekannten gastrointestinalen Hormonen nach CREUTZFELDT (1979) nur das GIP und das Gastrin in Frage.

2.2. DIABETESMODELLE BEI MÄUSEN

Die tierexperimentelle Diabetesforschung gewann mit der Züchtung genetisch fettsüchtiger und/oder hyperglykämisch- hyperinsulinämischer Laboratoriumstiere an Bedeutung.

Die so erhaltenen Diabetesmodelle dienen dazu, die Kohlenhydratstoffwechselstörungen zu untersuchen, um so möglichst Rückschlüsse auf die Pathogenese und eventuell auch auf die Therapie des Diabetes mellitus beim Menschen zu ziehen.

An den Tiermodellen lassen sich die Wechselbeziehungen zwischen einer erblichen Disposition und exogenen Faktoren untersuchen. Es kann geprüft werden, inwieweit sich durch diätetische Maßnahmen Manifestationszeitpunkt und Ausmaß einer genetisch bedingten Stoffwechselstörung beeinflussen lassen (HERBERG et al. 1976).

In verschiedenen Übersichten wurden die Stoffwechselbesonderheiten dieser Tiere beschrieben (BRUNK 1971, HERGERG 1975, HERBERG und COLEMAN 1977). Sie gehören der Ordnung der Nager und den Arten der Mäuse oder der Mäuseartigen an. Das Studium des Vererbungsmodus wird durch die rasche Generationsfolge dieser Tiere erleichtert. Außerdem kann mit relativ geringen Kosten ein zahlenmäßig großes Tiermaterial gewonnen werden.

In Tabelle A (HERBERG 1975) sind die spontandiatetischen Laboratoriumstiere, geordnet nach der Anzahl der mutierten Gene, die als verantwortlich für die Stoffwechselstörung anzusehen sind, aufgeführt.

Tabelle A (aus HERBERG 1975):

Nagetiere mit Hyperglykämie und/oder Fettsucht

Art	Gen= Symbol	Deutsche Bezeichnung
Mutation eines Gens		
Mus musculus L.	A ^y	gelbe fettsüchtige Maus (lethal)
	A ^{vy}	gelbe fettsüchtige Maus (lebensfähig)
	A ^{iy}	gelbe fettsüchtige Maus (intermediär)
	ob	Obesitas-Maus
	db	Diabetes-Maus
	ad	Adipositas-(Edin= burgh-)Maus
		Japanische fettsüchtige oder KK-Maus
Mus rattus L.	fa	Zucker-Ratte
Mutation mehrerer Gene		
Mus musculus L.		Neuseeländische fettsüchtige Maus
Cricetulus griseus		Streifenhamster oder Chinesischer Hamster
Acomys cahirinus		Stachelmaus
Psammomys obesus		Sandratte
Meriones unguiculatus		Mongolischer Gerbil
Ctenomys talarum		Tuco-tuco
Mystromys albi-caudatus		Afrikanische Weißschwanzratte
F ₁ -Hybriden		
Mus musculus L.		Wellesly hybride-Maus

Bei fast allen Mäusemodellen (Gelbe fettsüchtige Maus, Obesitas-Maus, Diabetes-Maus, KK-Maus, Neuseeländische fettsüchtige Maus) sind als Stoffwechselbesonderheiten hohe Blutzuckerspiegel, hohe Plasmainsulinspiegel und ausgeprägte Fettsucht vorhanden, zumindest in bestimmten Entwicklungsstadien.

Im Gegensatz zu den Mäusen ist der erhöhte Blutzuckerspiegel bei der Sandratte, der Spiny-Maus und beim Chinesischen Hamster nicht immer mit einem erhöhten Plasmainsulinspiegel gekoppelt. Diese Tiere haben oft eine ketotische Stoffwechsellaage und sind in mancher Hinsicht mit dem Diabetiker vom juvenilen Typ zu vergleichen.

Im Folgenden sollen nur die bekanntesten Mäusestämme, die in der experimentellen Diabetologie verwendet werden, einschließlich des für unsere Studien verwendeten Mäusestamms gg-diab, charakterisiert werden.

2.2.1. GELBE FETTSÜCHTIGE MAUS

Es gibt 3 Varianten der gelben fettsüchtigen Maus mit den Gensymbolen A^Y (y=yellow), A^{vY} (viable yellow) und A^{iy} (intermediär yellow). Während der Säugeperiode sind die A^Y -Mutante und die A^{vY} nicht zu unterscheiden, erst im höheren Lebensalter durch verschiedene Färbungen des Haarkleides. Die dritte Variante der gelben fettsüchtigen Maus steht mit ihrer dunklen Rücken- und hellen Bauchfärbung zwischen den beiden anderen Varianten und wird von DICKIE (1962) als

Intermediärtyp bezeichnet. Die Stoffwechselbesonderheiten der gelben fett-süchtigen Maus sind Hyperglykämie, Hyperinsulinämie und Fettsucht. Auf Cortison, Wachstumshormon, ACTH und Glukagon reagieren gelbe Mäuse mit einer zusätzlichen starken Blutzuckererhöhung (CARPENTER und MAYER 1958). Das Pankreas ist durch Hypertrophie und Hyperplasie der Langerhansschen Inseln gekennzeichnet (HELLERSTRÖM und HELLERSTRÖM 1963). Die Vergrößerung der Inseln wird durch eine kohlenhydratreiche Diät gefördert (SILBERBERG und SILBERBERG 1957).

2.2.2. OBESITAS - MAUS (OB)

Die Stoffwechselbesonderheiten der Obesitas-Maus sind Fettsucht, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie. HERBERG et al. (1970) konnten jedoch zeigen, daß sich in Abhängigkeit von Alter und Körpergewicht die Stoffwechsellage der Tiere ändert. Bei jungen Tieren (dynamische Phase der Fettsucht) steigen die Seruminsulin- und Blutglukosespiegel spontan an, die Glukosetoleranz sinkt ab. Bei 5-6 Monate alten Tieren (intermediäre Phase) bleiben Plasmainsulin und Blutglukose relativ stabil, während die Tiere weiter an Gewicht zunehmen. In der statischen Phase der Fettsucht, in der das Gewicht weitgehend stabil bleibt, sinken Insulin- und Glukosekonzentration im Blut spontan ab. Nach intravenöser Injektion von Glukose steigt die Insulinkonzentration im Serum der obob-Mäuse schnell an (WESTMAN 1970). Die beim Menschen festgestellte "Sekretionsstarre" ist somit im Fall

des obes-hyperglykämischen Syndroms der obob-Mäuse nicht nachzuweisen.

Das Pankreas von Obesitas-Mäusen ist durch Hypertrophie und Hyperplasie der Langerhansschen Inseln gekennzeichnet (HELLMAN et al. 1961). Das Inselvolumen kann im Vergleich zu den Kontrollen bis auf das zehnfache vergrößert sein, das Inselgewebe besteht zu fast 90 % aus Betazellen (LERNMARK 1971).

Die Stoffwechselbesonderheiten und die ihnen zugrunde liegenden Mechanismen sind von allen spontan-diabetischen Tierstämmen bei der Obesitas-Maus am intensivsten untersucht worden. Besonders die Erkenntnisse über die Insulinsekretion stützen sich in hohem Maße auf Untersuchungen an isolierten Inseln dieser Tiere.

2.2.3. DIABETES - MAUS (DB)

Die Mäusemutante C 57 BL/KsJ-db ähnelt in ihrem Erscheinungsbild sehr der Obesitas-Maus. Bei der Diabetes-Maus tritt jedoch die diabetische Stoffwechselstörung zu einem früheren Zeitpunkt auf als bei der Obesitas-Maus (HUMMEL et al. 1966). Nach einer vorübergehenden Phase erhöhter Insulinsekretion kommt es bei dieser Maus zum Diabetes mellitus durch Erschöpfung der Betazellen. Zwei Wochen alte Mäuse haben einen höheren Plasmainsulinspiegel als ihre Kontrollen. Er sinkt jedoch bereits um die achte Lebenswoche spontan ab. Auch der Insulingehalt des Pankreas nimmt mit zunehmendem Alter ab (COLEMAN und HUMMEL 1969). Studien der Insulinbiosynthese an isolierten

Inseln ergaben keinen Unterschied im Einbau von H-3-Leucin in die Proinsulin- und Insulinfraktion der diabetischen Tiere im Vergleich zu nichtdiabetischen Kontrolltieren (POFFENBERGER et al. 1971). Unter einer Glukosebelastung sinkt das Insulin auf die Hälfte des Ausgangswertes ab, während der Blutzucker bis auf das Dreifache ansteigt (DULIN und WYSE 1970a).

Mehrere Ursachen sind für die Ausbildung der diabetischen Stoffwechsellage bei der Diabetes-Maus verantwortlich. Neben einer gesteigerten Glukoneogenese und einer herabgesetzten Glukoseutilisation des Gewebes (COLEMAN und HUMMEL 1967) führt die verminderte Glykolyse zu einer Hyperglykämie (CHANG und SCHNEIDER 1970).

2.2.4. ADIPOSITAS - MAUS

Adipositas-Mäuse sind genotypisch, nicht jedoch phänotypisch von Diabetes- oder Obesitas-Mäusen zu unterscheiden. Als Stoffwechselbesonderheiten treten hier ebenfalls Fettsucht, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie auf. Bisher wurden an diesen Tieren noch keine Stoffwechseluntersuchungen durchgeführt.

2.2.5. JAPANISCHE FETTSÜCHTIGE MAUS

Diese Tiere (KK-Mäuse) sind durch mäßige Fettsucht, Hyperphagie und Polyurie gekennzeichnet. In den ersten acht Lebenswochen verhalten sich Nüchtern-

blutzucker und Glukosetoleranz normal (PENHOS et al. 1969). Ältere KK-Mäuse zeigen bei normalen oder leicht erhöhten Nüchternblutglukosewerten eine verminderte Glukosetoleranz (DULIN und WYSE 1970). Aufgrund der Beobachtung, daß diätetische Maßnahmen die Stoffwechsellaage verbessern, läßt sich folgern, daß bei KK-Mäusen die Kohlenhydratstoffwechselstörung wesentlich vom Grad der Fettsucht abhängig ist.

2.2.6. NEUSEELÄNDISCHE FETTSÜCHTIGE MAUS

Die New-Zealand-obese-Maus (NZO-Maus) zeichnet sich durch Neigung zur Adipositas und durch eine milde Hyperglykämie aus. Die höchsten Blutzuckerwerte, die selten 250 mg% übersteigen, treten zwischen dem 4. und 6. Lebensmonat auf (BIELSCHOWSKY und BIELSCHOWSKY 1956). HERBERG et al. (1970) fanden, daß bei NZO-Mäusen die Toleranz gegenüber Glukose mit zunehmendem Alter und Körpergewicht absinkt. Auf Arginin reagiert die NZO-Maus wie ein stoffwechselgesundes Tier: einem initialen Plasmainsulinanstieg folgt ein Abfall. Auch das Verhalten der Blutglukose auf Arginin ist bei NZO-Mäusen unauffällig, wogegen die übrigen Stämme (obob-Maus, Diabetes-Maus) mit einem deutlichen Anstieg der Blutglukose auf eine Argininbelastung reagieren (HERBERG et al. 1976). LARKINS (1973) fand, daß nach einer 12-stündigen Fastenperiode bei der NZO-Maus keine Insulinsekretion durch Glukose erreicht wird. Das bestätigt die Theorie von LEVIN (1971), daß Glukose und Aminosäuren die Insulinsekretion

durch unterschiedliche Mechanismen stimulieren. Die Langerhansschen Inseln des Pankreas bei NZO-Mäusen sind im Vergleich zu den Kontrollstämmen zahlreicher und größer.

2.2.7. LINIE GG-DIAB

Während die zuvor charakterisierten tierexperimentellen Modelle des Diabetes mellitus zufällig entdeckt wurden, wurde das diabetesähnliche Syndrom der gg-diab-Maus gezielt durch selektive Züchtung hervorgerufen. Ausgangsmaterial für die Züchtungen waren Tiere des Q-Stammes der Linie E large Edingburgh. Diese Tiere wurden über mehrere Generationen nach einem Rotationsschema nach ROBERTSON (FALCONER 1967) vermehrt. Als Selektionsparameter dienten die Geschwindigkeit der Glukoseassimilation nach i.v. Verabreichung von Glukose sowie der Glukosenüchternwert im Blut nach 16 Stunden Futterentzug. Mäuse mit hoch- bzw. tiefnormaler intravenöser Glukosetoleranz wurden über mehrere Generationen jeweils untereinander gepaart und weitergezüchtet (Linie gg-anti bzw. gg-diab) bis sich bei der Linie gg-diab ein genetisch fixierter latenter Diabetes mellitus entwickelte. Neben Hyperglykämie und verlangsamter Glukoseassimilation zeigen die Mäuse der Linie gg-diab eine herabgesetzte Insulinausschüttung. Eine Neigung zur Fettsucht besteht nicht. Bei den männlichen gg-diab Mäusen (100 Tage alt) konnten GÄRTNER et al. (1976) nach i.v. Glukosegabe keinen Anstieg der Plasmainsulinkonzentration

feststellen. Die Kontrollgruppe gg-anti hingegen zeigt eine deutliche Korrelation zwischen Blutglukose- und Blutinsulinkonzentration. Die Blutglukosenüchternwerte steigen bei Mäusen der gg-diab-Linie vom 30. bis 100. Lebenstag signifikant an, wogegen bei der gg-anti-Linie keine Unterschiede der Glukosenüchternwerte auftreten (KETTENDÖRFER 1976).

Neben Störungen im Kohlenhydratstoffwechsel konnten GALASKE et al. (1975) auch Nierenfunktionsstörungen in Form einer erhöhten Proteinurie bei normaler glomerulärer Filtrationsrate nachweisen.

Die Langerhansschen Inseln älterer Tiere (200-400 Tage) der Linie gg-diab sind durch Hypertrophie und Hyperplasie gekennzeichnet. Die Inseln junger Tiere (jünger als 100 Tage) unterscheiden sich morphologisch nicht von denen der Kontrollgruppe (GÄRTNER et al. 1976).

2.3. DIABETES UND ERNÄHRUNGSFAKTOREN

Bei gegebener genetischer Prädisposition ist die klinische Manifestation des Erwachsenenidiabetes in hohem Maße von exogenen Faktoren abhängig. Einer der wichtigsten Manifestationsfaktoren des Diabetes mellitus ist die Fettsucht, die Überwiegend auf eine im Verhältnis zum Verbrauch überhöhten Kalorienzufuhr zurückzuführen ist. Etwa 80% aller manifesten Erwachsenen- oder Altersdiabetiker sind beim ersten Auftreten der Krankheit deutlich Übergewichtig.

Der Übergewichtige Erwachsenenidiabetiker ist in fast allen Fällen durch eine erhöhte Insulinsekretion gekennzeichnet. Mit Zunahme des Körpergewichts tritt jedoch eine Resistenz des Organismus gegenüber Insulin auf. Nach Verabreichung von Kohlenhydraten finden sich deshalb beim Adipösen bei gleichen Blutglukosewerten höhere Insulinkonzentrationen als beim Normalgewichtigen (KARAM et al. 1963, PERLEY und KIPNIS 1966, GREY und KIPNIS 1971). Eine Ursache für die herabgesetzte biologische Wirkung des Insulins beim Adipösen ist wahrscheinlich die geringere Insulinempfindlichkeit hypertropher Fettzellen, was FAULHABER et al. (1970) an isolierten Zellen nachweisen konnten.

Bei der Diabetesdiät wurde schon immer den Kohlenhydraten besondere Bedeutung beigemessen. Nicht nur der quantitative Einfluß kohlenhydratreicher Ernährung auf den Glukosestoffwechsel, sondern die Wirkung verschiedener Kohlenhydratformen auf den Blutzucker muß bei der Diabetesdiät berück=

sichtigt werden.

Folgende Unterschiede bestehen (KNICK und KNICK 1976):

1. Monosaccharide führen bei gleicher verabreichter Menge zu höherem Blutzuckeranstieg als Polymere desselben Zuckers.
2. Glukose führt zu höherem Blutzuckeranstieg als Fruktose
3. Leicht aufschließbare Kohlenhydrate führen zu höheren Blutzuckerwerten als schwer aufschließbare
4. Kohlenhydrate allein bewirken einen stärkeren Blutzuckeranstieg als Kohlenhydrate in Kombination mit Fett oder Eiweiß (wahrscheinlich durch eine verzögerte Magenentleerung).

Verschiedene Publikationen lassen vermuten, daß besonders der Saccharose ein diabetogener Effekt zukommt, der von COHEN et al. (1961) beschrieben wurde. Diese Autoren beobachteten die Folgen des Diätwechsels von stärkehaltiger auf rohrzuckerreiche Nahrung bei yeminitischen Einwanderern in Israel.

Nach saccharosereicher Diät wurde auch bei Ratten eine Beeinträchtigung der Glukosetoleranz gefunden (COHEN und TEITELBAUM 1964, LAUBE et al. 1972). Eine Normalisierung der durch Saccharose induzierten pathologischen Stoffwechselfparameter wird durch Stärke als einzigem Kohlenhydratanteil anstelle von Saccharose erreicht (COHEN et al. 1966). Andere Autoren konnten hingegen keinen Einfluß von Saccharose auf die Insulinsekretion und den Glukosestoffwechsel beim Menschen nachweisen (DUNNIGAN et al. 1970). RODGERS (1970) fand so=

gar eine verbesserte Glukosetoleranz bei Diabetikern.

Heute darf jedoch als sicher gelten, daß nach saccharosereicher Ernährung zumindest bei einem Teil der untersuchten Individuen ein Hyperinsulinismus auftritt (LAUBE 1976). Dabei ist die Wirkung der Saccharose kein spezifischer Effekt, da nach Verabreichung von äquivalenten Mengen an Saccharose bzw. Glukose und Fruktose keine Unterschiede im Kohlenhydrat-Fett-Stoffwechsel auftraten (LAUBE et al. 1973a,b).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel von den einzelnen Kohlenhydratarten verschieden stark beeinflußt werden, wobei stammesspezifische Unterschiede (MARSHALL und HILDEBRAND 1963, BERDANIER 1974, HERBERG et al. 1974) und auch Unterschiede innerhalb der gleichen Species (COHEN 1967) auftreten. Die metabolischen Auswirkungen einer Kohlenhydratzufuhr hängen daher zum einen von der Struktur des Kohlenhydratmoleküls, zum anderen von der genetischen Disposition des Empfängers ab (COHEN 1978).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. CHEMIKALIEN

Salze, Glukose, Essigsäure, Trichloressig= säure	im Reinheitsgrad p.a. von der Firma E.Merck AG, Darmstadt
Albumin	Serumalbumin vom Rind, Behringwerke, Margurg/Lahn
Collagenase	Collagenase aus Clostridium histolyticum, 0,63 U/mg Ma= terial bzw. 0,97 U/mg, Serva, Heidelberg
Enzyminhibitor Theophyllin	Trasylol, Bayer, Leverkusen 1,3-Dimethylxanthin, Serva Heidelberg
Pilocarpin	0,01 g in Ringer'scher Lsg. Dr. Thilo und Co GMBH, Sauerlach b. München
GIP	lot E.G.III vom Schwein, präpariert von Dr. J.Brown Firma Paesel, Frankfurt/M
Glukagon	kristallisiertes Schweine= glukagon, Novo Industrie A/S Kopenhagen
³ H-Leucin	L-(4,5- ³ H) Leucin, 60 Ci/mmol Radiochemical Centre, Amersham
Aminosäuren	L-Form, chromatographisch rein Serva, Heidelberg
Radioimmunbesteck zur Insulinbe= stimmung	RIA-gNost Insulin, Behring= werke, Marburg/Lahn

Triglyceridbe-	Test-Combination Triglyceride
stimmung	vollenzymatisch, Boehringer,
	Mannheim
Cholesterinbe-	Test-Combination Cholesterin
stimmung	Boehringer, Mannheim

Zum Studium des ^3H -Leucin Einbaus:

Insulin	kristallisiertes Schweinein-
	sulin, Novo Industrie A/S
	Kopenhagen
Sephadex	G 50 fine, Pharmacia Fine
	Chemicals, Uppsala
Szintillations=	Insta-Gel, Firma Packard,
gel	Frankfurt/M.

3.2. TIERE

3.2.1. RATTEN

Zur Isolierung Langerhansscher Inseln dienten männliche Albinoratten (Stamm FW 49 Lemgo.-Kirch.-Bib., Tierzucht der Fa. Thomas, Biberach/Riß) mit einem Gewicht von ca. 150 g. Die Tiere hatten freien Zugang zu Futter (Altromin, Firma Altrogge und Co, Lippe) und Wasser. Um streßbedingte Verschiebungen im Kohlenhydratstoffwechsel zu vermeiden, wurden die Tiere erst einige Tage nach Anlieferung zur Inselgewinnung verwendet. Die Versuche wurden jeweils zur gleichen Uhrzeit begonnen, um tageszeitliche Schwankungen der Insulinsekretion zu vermeiden.

3.2.2. MÄUSE

Die Mäuse stammten von Tieren des Q-Stammes Linie E-large Edinburgh ab, die 1970 nach Hannover überführt worden waren. Sie wurden seitdem über mehrere Generationen gezüchtet und dabei nach den beiden Parametern Glukoseassimilationskoeffizient (k-Wert) und Blutglukosenüchternwert selektioniert (vgl. Gliederungspunkt 2.2.7.).

Die für die vorliegenden Versuche verwendeten männlichen Mäuse der Linie gg-diab bzw. gg-anti stammten aus der 20. Generation.⁺

⁺ Die Mäuse wurden uns von Prof. Dr. GÄRTNER, Zentrales Tierlabor der Medizinischen Hochschule Hannover, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Tiergruppen gg-anti und gg-diab erhielten ab dem 120. Lebenstag jeweils zur Hälfte (20 Tiere pro Untergruppe) 8 Wochen lang entweder Normalfutter oder eine kohlenhydratreiche Diät, die 68% Saccharose enthielt (beide Futterarten von Fa. Altromin, Lage).

Zusammensetzung des saccharosehaltigen Futters:

68% Saccharose
22% Casein
5% Sojaöl
Vitamine und Mineralien

Die Tiere wurden in klimatisierten Räumen bei 22°C und 55% relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Belichtet wurde von 7.00 bis 19.00 Uhr, die Dunkelphase herrschte von 19.00 bis 7.00 Uhr.

Zum Studium der Inselfunktion in vitro wurden die Inseln von 100 Tage alten Mäusen isoliert.

3.3. ALLGEMEINE METHODIK DER UNTERSUCHUNGEN AN INSELN IN VITRO

3.3.1. ISOLATION VON LANGERHANSSCHEN INSELN

Zur Inselgewinnung wurde das Pankreas mit Collagenase nach der Methode von LACY und KOSTIANOVSKY (1967) aufgeschlossen. Den Ratten wurde zwei Stunden vor Versuchsbeginn 0,5 ml Pilocarpin (4%) intraperitoneal gespritzt, um den Gehalt an Proteasen im Pankreas zu verringern (KUD et al. 1973). Die Mäuseinseln wurden ohne vorherige Verabreichung von Pilocarpin isoliert. Zwei Ratten bzw. 6-7 Mäuse wurden durch Dekapitation getötet. Bereits in situ wurden in den Ductus pancreaticus einige ml eines modifizierten Krebs-Ringer-Bicarbonatpuffers (KRB-Puffer) injiziert, um die Freisetzung bzw. Wirkung von Verdauungsenzymen möglichst zu verhindern und eine erste mechanische Lockerung des Pankreasgewebes zu erreichen.

Zusammensetzung des KRB-Puffers:

NaCl	0,90%	400 Teile
KCl	1,15%	16 Teile
CaCl ₂	1,10%	12 Teile
KH ₂ PO ₄	2,11%	4 Teile
MgSO ₄	3,82%	4 Teile
NaHCO ₃	1,30%	84 Teile

Das Pankreas wurde herausgeschnitten und in eiskaltem Puffer soweit mit einer Schere zerkleinert, bis die Gewebeteilchen mit einer 5 ml Spritze

ohne Kanüle aufgezogen werden konnten. Der Gewebebrei wurde in einer Collagenase-Lösung (40 mg Collagenase plus 20 mg Rinderalbumin in 2 ml KRB-Puffer) im Brutschrank auf 37°C erwärmt und mittels eines Magnetrührers gerührt. Nach etwa 15-20 Minuten wurde der Verdauungsvorgang durch Auffüllen mit eiskaltem KRB-Puffer gestoppt. Der Pufferüberstand wurde abgesaugt. Die sedimentierten Gewebstückchen wurden anschließend noch zweimal mit Puffer gewaschen. Die aufgeschwemmten Gewebeteilchen wurden in eine Petrischale gegossen, und die isolierten Inseln wurden unter dem Stereomikroskop mittels einer zur Kapillare ausgezogenen Pasteurpipette herausgefischt. Aus 2 Ratten- bzw. 6-7 Mäusepankrea wurden jeweils 80-150 Inseln für die Versuche ausgewählt und eingesetzt.

3.3.2. INKUBATION ISOLierter INSELN ZUM STUDIUM DER BIOSYNTHESE UND SEKRETION

Zur Inkubation wurde ein Krebs-Ringer-Aminosäurepuffer (im Folgenden als AS-Puffer bezeichnet) verwendet. Dazu wurden je 20 mg der Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparagin, Cystein, Glutamin, Glycin, Histidin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan, Valin, Tyrosin in 1000 ml KRB-Puffer gelöst. Je ml Puffer wurden 800 KIE Trasylol und 2 mg Albumin zugefügt (SCHATZ et al. 1973b, 1975). In Reagenzröhrchen mit je 1ml AS-Puffer und der jeweiligen Glukosemenge wurden je 20 isolierte

Langerhanssche Ratten- bzw. Mäuseinseln eingebracht. In die Medien wurden dabei viermal hintereinander abwechselnd je fünf Inseln einpipettiert, um eine gleichmäßige Verteilung in Bezug auf die Inselgröße zu gewährleisten. Außerdem wurde dadurch erreicht, daß die entsprechenden Nullwerte der Insulinsekretion gleich waren. Zum Studium der Insulinneusynthese wurden sämtlichen Röhrchen 20 μCi ^3H -Leucin zugefügt. Die Inseln in den entsprechenden Medien wurden dann 3 Stunden lang unter einer konstanten Gasatmosphäre von $\text{O}_2 : \text{CO}_2$ wie 95 : 5% im Schüttelwasserbad mit einer Frequenz von 30% bei 37°C inkubiert.

Zur Bestimmung des während der Inkubation ins Medium sezernierten Insulins wurden zu Beginn (Nullwerte) und in einstündigem Abstand je Röhrchen 2 mal 20 μl vom Medium abpipettiert.

Sollte nur die Sekretion von Insulin an isolierten Inseln untersucht werden, dann wurden je 7 Inseln in Reagenzröhrchen mit je 1 ml Glukose-Puffer (= KRB-Puffer + Glukose) und den entsprechenden Testsubstanzen 60 min inkubiert.

Zur Bestimmung des sezernierten Insulins wurden zu Beginn, nach 30 min und nach 60 min je Röhrchen 2 mal 50 μl vom Medium abpipettiert.

3.3.3 RADIOIMMUNOLOGISCHE INSULINBESTIMMUNG

Mit dem Radioimmunbesteck RIA-Gnost wurde das Insulin nach dem Prinzip der kompetitiven Proteinbindungsanalyse (YALOW und BERSON 1960) bestimmt. Bei diesem Verfahren konkurrieren die zu messende

variable Menge von Insulin mit ^{125}J -markiertem Insulin um begrenzt verfügbare Bindungsplätze eines Insulinantikörpers. Nach Ablauf der Reaktion zwischen ^{125}J -Insulin, zu bestimmendem Insulin und Antikörper wurden die gebildeten Insulin-Antikörper-Komplexe vom freien Insulin durch Fällung mit Polyäthylenglykol (PEG) abgetrennt. Zur Insulinbestimmung im Inkubationsmedium (also nicht im Serum) wurde die Methode von uns dahingehend modifiziert, daß vor der Trennung mit PEG pro Probe 100 μl Humanserum zugegeben wurden, um eine konstante Proteinausfällung zu erreichen. Der in dem gebildeten Niederschlag vorhandene Anteil an jodmarkiertem Insulin verhält sich umgekehrt zur Insulin-Konzentration in der Probe. Nach Messen der Radioaktivität im Gamma-Spektrometer (W + W, MR 1032) wird an einer Standardkurve, wobei Schweineinsulin oder -in Versuchsreihe D-Ratteninsulin verwendet wurde, die Insulinkonzentration abgelesen.

3.3.4. BESTIMMUNG DES ^3H -LEUCIN-EINBAUS

Mit einem Homogenisator (Labsonic 1510, Braun) wurde jeder Röhrcheninhalt (20 Inseln und 1 ml Medium) ca. 20 sec. homogenisiert. Dem Homogenat wurden 1 mg Schweineinsulin und 0,5 ml 30%ige Trichloressigsäure (TCA) zugesetzt. Zum Absetzen des Präzipitates wurden die Röhrchen etwa 30 Minuten im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend wurden sie 10 Minuten bei 3600 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und

das Präzipitat in 1 ml 1molarer Essigsäure gelöst. Die Auftrennung der mit TCA gefällten Inselproteine erfolgte auf Sephadex-Säulen.

Das über Nacht gequollene Gel (1 mg Sephadex G 50 fine pro 50 ml aqua bidest) wurde in die Säulen (Durchmesser 1,5 cm) gefüllt, die dann mit 1molarer Essigsäure äquilibriert wurden. Vor Auftragen der gefällten Inselproteine wurde die Säule jeweils mit Albumin abgesättigt und kalibriert.

Von den gesammelten 1 ml-Fractionen (7000 Ultrara Fraction Collector, LKB) wurden 0,1 ml zur Radioaktivitätsmessung eingesetzt. Je 0,1 ml Probe wurden 5 ml Szintillationsgel zugesetzt.

Die Radioaktivität der Proben wurde 1 min lang im Beta-Szintillationsspektrometer (Packard) gemessen.

Die Auftrennung der Inselproteine ergab das von STEINER und OYER (1967) beschriebene Elutionsdiagramm. Der erste Peak entsprach den Nicht-Insulin-Proteinen, der mittlere dem Proinsulin und der dritte dem Insulin (SCHATZ et al. 1973b).

3.4. SPEZIELLE INKUBATIONSSCHEMATA

3.4.1. VERSUCHSREIHE A:

DER EINFLUSS VON GIP AUF DIE BIOSYNTHESE
UND SEKRETION VON INSULIN AN ISOLIERTEN
RATTENINSELN

In Reagenzröhrchen mit je 1 ml AS-Puffer, der 5,5 bzw. 11 mM Glukose enthält, wurden je 20 isolierte Langerhanssche Ratteninseln eingebracht. In die Hälfte der Röhrchen wurde die Testsubstanz GIP in einer Konzentration von 5 µg/ml gegeben. Außerdem wurden jeweils 20 µCi ³H-Leucin zugefügt. Während der dreistündigen Inkubation wurden zu Beginn und in einstündigem Abstand vom Medium Proben entnommen, deren Insulingehalte bestimmt wurden.

Die verwendete GIP-Präparation zeigte keine Insulinimmunoreaktivität und reagierte im Glukagon-Radioimmunoassay (Serono-Kit, Freiburg) entsprechend einem Glukagongehalt von 0,5%. Daß es sich bei lot EG III um eine nahezu 100%ige GIP-Menge handelte, wurde durch radioimmunologische Messung, die freundlicherweise von Dr. Ebert, Göttingen, durchgeführt wurde, bestätigt.

3.4.2. VERSUCHSREIHE 8:

DER EINFLUSS VON GIP AUF DIE INSULINSEKRETION MIT UND OHNE AMINOSÄUREN IM MEDIUM

Je 7 Inseln in Reagenzröhrchen mit je 1 ml KRB-Puffer und 5,5 mM Glukose (= Glukosepuffer) wurden 30 Minuten im Wasserbad bei 37°C vorinkubiert. Das Inkubationsmedium wurde anschließend abpipettiert und pro Röhrchen 1 ml neues Medium wie folgt dazugegeben:

- 1) 5,5 mM Glukose-Puffer (Kontrolle) oder
11 mM Glukose-Puffer oder
11 mM Glukose-AS-Puffer oder
11 mM Glukose-Puffer + GIP (5 µg/ml) oder
11 mM Glukose-AS-Puffer + GIP (5 µg/ml)

- 2) 11 mM Glukose-Puffer (Kontrolle) oder
5,5 mM Glukose-Puffer oder
5,5 mM Glukose-AS-Puffer oder
5,5 mM Glukose-Puffer + GIP (5 µg/ml) oder
5,5 mM Glukose-AS-Puffer + GIP (5 µg/ml).

Die Inseln wurden 60 Minuten inkubiert. Zur Insulinsekretionsbestimmung wurden zu Beginn, nach 30 Minuten und nach 60 Minuten je Röhrchen 2 mal 50 µl vom Medium abpipettiert.

3.4.3. VERSUCHSREIHE C:

DER EINFLUSS VON GIP PLUS GLUKAGON AUF
DIE INSULINSEKRETION

Je 7 Inseln pro Reagenzröhrchen mit je 1 ml

5,5 mM Glukose-Puffer (Kontrolle) oder
11 mM Glukose-Puffer oder
11 mM Glukose-Puffer + GIP (5 µg/ml) oder
11 mM Glukose-Puffer + Glukagon (5µg/ml) oder
11 mM Glukose-Puffer + GIP (5µg/ml) + Glukagon
(5µg/ml)

wurden 60 Minuten inkubiert. Zur Bestimmung der
Insulinfreisetzung wurden zu Beginn, nach 30
Minuten und nach 60 Minuten 50 µl-Proben vom
Medium entnommen.

3.4.4. VERSUCHSREIHE D:

BIOSYNTHESE UND SEKRETION VON INSULIN AN
INSELN DER MÄUSELINIEN GG-DIAB und GG-ANTI

Die Inkubation der isolierten Mäuseinseln erfolgte
im AS-Puffer, der 5,5 bzw. 11 mM Glukose enthielt.
Je 20 Inseln der jeweiligen Gruppe in Reagenz=
röhrchen mit je 1 ml

5,5 mM Glukose-AS-Puffer oder
11 mM Glukose-AS-Puffer oder
11 mM Glukose-AS-Puffer + Theophyllin (5 mM)

wurden 3 Stunden lang bei 37°C im Wasserbad inku=

biert. Zur Insulinsekretionsbestimmung wurden zu Beginn und in einstündigem Abstand 20 μ l-Proben vom Medium entnommen.

3.4.5. VERSUCHSREIHE E:

BIOSYNTHESE UND SEKRETION VON INSULIN AN
INSELN DER MÄUSELINIEN GG-DIAB bzw. GG-
ANTI NACH KOHLENHYDRATREICHER DIÄT

Je 20 isolierte Langerhanssche Inseln der jeweiligen Fütterungsgruppe (gg-anti-Sacch, gg-diab-Sacch, gg-anti-Normal, gg-diab-Normal) wurden in 1 ml AS-Puffer mit 5,5 mM bzw. 11 mM Glukose in Anwesenheit von ^3H -Leucin (20 $\mu\text{Ci/ml}$) 3 Stunden lang inkubiert.

Zur Bestimmung der Insulinsekretion während der Biosynthese wurden in einstündigem Abstand vom Medium Proben (20 μ l) abpipettiert.

3.5. BLUTENTNAHMEN BEI DEN MÄUSEN

Blut für die Glukose- und Insulinbestimmung wurde den Tieren während des achtwöchigen Fütterungsversuches 3 mal (0, 4, 8 Wochen) mit Hilfe von Kapillaren aus dem retroorbitalen Venenplexus entnommen. Nach der Blutentnahme, die immer zum gleichen Zeitpunkt und immer von der gleichen Person durchgeführt worden ist, wurde jedem Tier etwa 1 ml Tyrodelösung⁺ unter das Nackenfell gespritzt.

⁺ Tyrodelösung: 100 ml Tyrode I-Konzentrat und
100 ml Tyrode II-Konzentrat wurden
auf 1000 ml aufgefüllt.

Tyrode-I-Konzentrat :	NaCl	8,0
	KCl	0,2
	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,2
	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0,1
	Wasser für Injektion ad	
		100 ml

Tyrode-II-Konzentrat:	NaH ₂ PO ₄ x 2H ₂ O	0,05
	Na HCO ₃	1,00
	Wasser für Injektion ad	
		100 ml

3.6. GLUKOSEBESTIMMUNG IM URIN

Durch leichtes Drücken auf die Harnblasen der Tiere wurden einige Tropfen Urin gewonnen, die auf Glukose mittels Teststäbchen (Multistix, Ames)

Überprüft wurden. Die Bestimmung erfolgte somit semi-quantitativ.

3.7. BESTIMMUNG DER GLUKOSEKONZENTRATION IM BLUT

Die Glukose wurde mit dem Glukose-Analysator der Firma Beckmann bestimmt.

Das Verfahren basiert auf der Messung des Sauerstoffverbrauchs während der enzymatischen Oxidation der Glukose in Gegenwart von Glukoseoxidase. Die Abnahme der Sauerstoffkonzentration wird mittels eines polarographischen Sauerstoff-Sensors gemessen und durch eine volltransistorisierte Elektronik zur Abnahmegeschwindigkeit differenziert (kinetische Messung). Das Maximum der Abnahmegeschwindigkeit ist der Glukosekonzentration der Probe direkt proportional.

Die Anzeige der Meßwerte erfolgt direkt in Konzentrationseinheiten.

3.8. BESTIMMUNG DES PROTEINGEHALTS DER MÄUSE=INSELN

Der Inselproteingehalt wurde nach der Methode von LOWRY et al. (1951) bestimmt. Das Prinzip beruht darauf, daß das Protein mit Kupfer-Ionen in alkalischer Lösung einen Farbkomplex bildet, der durch Zugabe von Folin-Ciocaltens-Phenolreagenz (Merck) verstärkt wird.

Etwa 20 isolierte Inseln wurden in einem Reagenz=

gläschen trockengesaugt und in 100 µl 0,15 molarer NaCl-Lösung homogenisiert. Dazu wurden die Reagenzien für die Bestimmung gegeben. Mit verschiedenen Rinderalbuminkonzentrationen wurde eine Eichkurve aufgestellt. Die Farbintensität der einzelnen Proben wurde am Spektralphotometer (Zeiss, PM Q II) bei einer Wellenlänge von 750 nm bestimmt.

3.9. SERUMCHOLESTERINBESTIMMUNG

Die Bestimmung der Cholesterinkonzentration im Serum der Mäuse nach dem achtwöchigen Fütterungsversuch wurde mit der Test-Combination Cholesterin (Boehringer, Mannheim) durchgeführt. Das Mischblut der Tiere wurde bei der Dekapitierung gewonnen.

Bei diesem enzymatischen Farbtest bildet das aus Cholesterin mittels Cholesterinoxidase entstandene H_2O_2 mit Aminophenazon und Phenol einen Farbkomplex (TRINDER 1969).

3.10. BESTIMMUNG DER TRIGLYCERIDE

Die Triglyceridkonzentrationen im Serum der Mäuse wurden mit der "Test-Combination Triglyceride vollenzymatisch" von Boehringer, Mannheim, bestimmt.

Die Methode (modifiziert nach WAHLEFELD und BERGMAYER 1974) beruht auf der enzymatischen Triglyceridbestimmung nach enzymatischer Spal-

tung der Triglyceride in Glycerin und Fettsäuren.

3.11. STATISTIK

Für die Beurteilung von Mittelwertdifferenzen wurde unter Voraussetzung einer Normalverteilung der Student's t-Test benutzt. Die Differenz zweier Werte wurde als signifikant angesehen, wenn bei zweiseitiger Prüfung $p < 0,05$ war.

In Versuchsreihe A, in der immer ein Paar verglichen wurde (Inkubation nur mit Glukose - Inkubation mit Glukose plus GIP), war die Anwendung des t-Tests für verbundene Stichproben berechtigt.

Die Ergebnisse der anderen Versuchsreihen wurden mit dem t-Test für unverbundene Stichproben ausgewertet (KAISER und GOTTSCHALK 1972).

4. ERGEBNISSE

4.1. WIRKUNGEN VON GIP AUF LANGERHANSSCHE RATTEINSELN

4.1.1. DER EINFLUSS VON GIP AUF DIE BIOSYNTHESE UND SEKRETION (VERSUCHSREIHE A)

Nach einer dreistündigen Einwirkungszeit von GIP auf isolierte Langerhanssche Ratteninseln wurde sowohl bei 5,5 mmol/l als auch bei 11 mmol/l Glukose im Inkubationsmedium eine signifikante Erhöhung des ^3H -Leucineinbaus in die Hormonfraktionen gefunden (Abb. 1).

Der ^3H -Leucineinbau in die höhermolekulare Proteinfraktion (" Andere Proteine ") blieb unbeeinflusst.

Aus Tabelle 1 kann abgeleitet werden, daß die Gesamthormonbiosynthese (Proinsulin + Insulin) durch GIP um 19% bei 5,5 mmol/l Glukose und um 12% bei 11 mmol/l Glukose gesteigert wurde.

Auch die Insulinsekretion wurde bei beiden Glukosekonzentrationen während der dreistündigen Inkubation der Inseln durch GIP signifikant erhöht (Abb. 2).

Die Steigerung betrug nach 3 Stunden 50% bei 11 mmol/l Glukose und 65% bei 5,5 mmol/l Glukose.

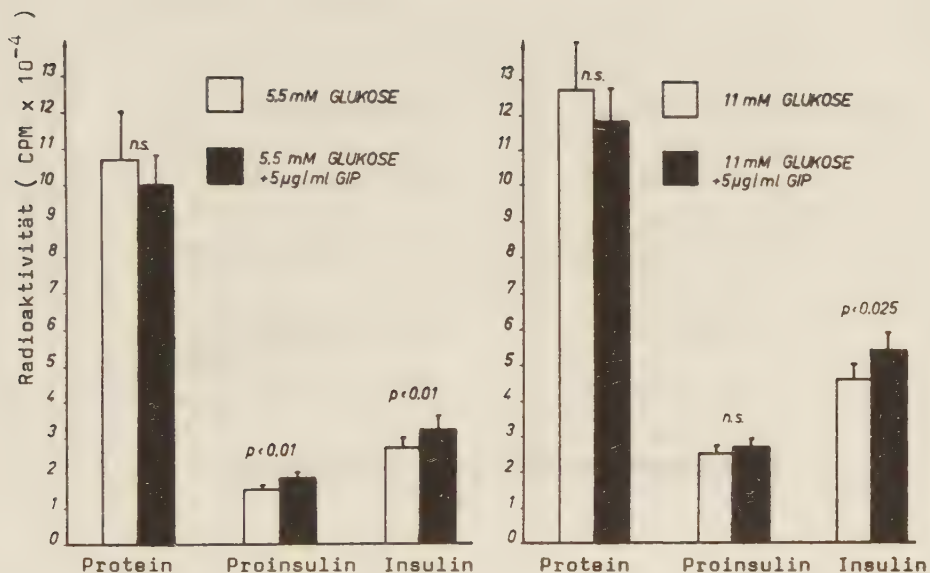


Abb. 1 ^3H -Leucin-Einbau in 3 Fraktionen von Inselproteinen nach 3 stündiger Inkubation von 20 isolierten Ratteninseln bei 5,5 mM oder 11 mM Glukose allein oder in Anwesenheit von GIP (5 µg/ml).

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 15$, n.s. = nicht signifikant

cpm (Proinsulin + Insulin)	
5,5 mM Glukose	42 156 $\pm$ 4 437
	p < 0,005
+ 5 μ g/ml GIP	50 153 $\pm$ 4 832
11 mM Glukose	71 224 $\pm$ 5 837
	p < 0,025
+ 5 μ g/ml GIP	80 747 $\pm$ 7 303

Tabelle 1: Radioaktivitätseinbau (cpm) in die Gesamthormonfraktion (= Proinsulin + Insulin) der Inselproteine nach dreistündiger Inkubation von 20 isolierten Ratteninseln bei 5,5 bzw. 11 mM Glukose in Anwesenheit von ^3H -Leucin und GIP (5 μ g/ml).
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 15

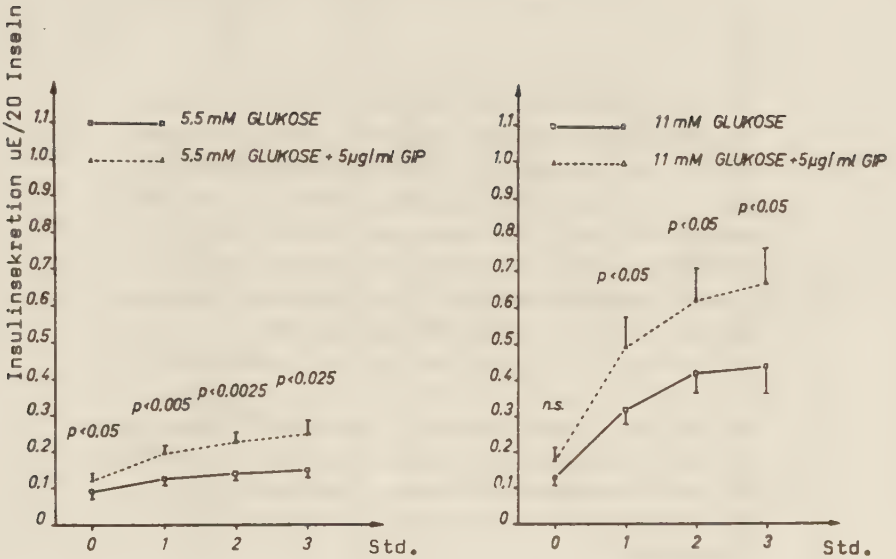


Abb. 2: Der Einfluß von GIP (5 µg/ml) auf die Insulinsekretion von 20 isolierten Ratteninseln während einer 3 stündigen Inkubation bei 5,5 mM oder 11 mM Glukose im Medium.
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 15$

4.1.2. DER EINFLUß VON GIP AUF DIE INSULINSEKRETION MIT UND OHNE AMINOSÄUREN (VERSUCHSREIHE B)

In dieser Versuchsreihe wurde der Einfluß eines Aminosäuregemisches auf den insulinfreisetzenden Effekt von GIP getestet. Bei 11 mM Glukose (Tabelle 2) wurde die Insulinsekretion mit und ohne Aminosäuren durch GIP potenziert. Die Insulinfreisetzung war bei Anwesenheit von Aminosäuren im Inkubationsmedium erhöht, allerdings nicht signifikant. Der durch GIP induzierte relative Anstieg war jedoch mit und ohne Aminosäuren der gleiche.

Bei 5,5 mM Glukose konnte in dieser Versuchsreihe keine signifikante Steigerung der Insulinsekretion durch GIP demonstriert werden, unabhängig von der Anwesenheit oder Abwesenheit von Aminosäuren (Tabelle 3).

4.1.3. DER EINFLUß VON GIP PLUS GLUKAGON AUF DIE INSULINSEKRETION (VERSUCHSREIHE C)

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wird die Insulinausschüttung durch jedes der beiden Hormone GIP und Glukagon allein signifikant erhöht. Der potenzierende Effekt ist bei beiden Substanzen etwa gleich.

Bei Zugabe beider Hormone gemeinsam ließ sich kein zusätzlicher Stimulationseffekt beobachten. Der Sekretionsanstieg lag mit 12% niedriger als der Anstieg, der durch die Zugabe der einzelnen Hormone allein demonstriert werden konnte und war gegenüber der Glukosekontrolle nicht mehr signifikant.

Insulinfreisetzung ($\mu\text{E}/7$ Inseln)

	0 Min	30 Min	60 Min
5,5 mM Glukose	28 $\pm$ 2	41 $\pm$ 5]	41 $\pm$ 4]
		*	*
11 mM Glukose	23 $\pm$ 2	68 $\pm$ 9]	106 $\pm$ 13]
		]	]
+ AS	29 $\pm$ 5	82 $\pm$ 13 *	129 $\pm$ 19 *
		]	]
+ 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ GIP	30 $\pm$ 3	124 $\pm$ 10] *	185 $\pm$ 14] *
		]	]
+ AS + GIP (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	33 $\pm$ 5	150 $\pm$ 18]	207 $\pm$ 23]

* $p < 0,02$

Tabelle 2: Der Einfluß von Aminosäuren (AS) und GIP auf die Insulinsekretion von 7 isolierten Ratteninselfn während einstündiger Inkubation bei 11 mM Glukose.
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 11

Insulinfreisetzung ($\mu\text{E}/7$ Inseln)

	0 Min	60 Min
5,5 mM Glukose	29 ± 4	51 ± 6
+ AS	28 ± 3	40 ± 5
+ 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ GIP	26 ± 4	49 ± 7
+ AS + GIP (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	20 ± 4	42 ± 2
11 mM Glukose	29 ± 7	131 ± 22

$p < 0,007$

Tabelle 3:

Der Einfluß von Aminosäuren (AS) und GIP auf die Insulinsekretion von 7 isolierten Ratteninseln während einstündiger Inkubation bei 5,5 mM Glukose.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 5$

Insulinsekretion ($\mu\text{E}/7$ Inseln)

	0 Min	30 Min	60 Min
11 mM Glukose	87 $\pm$ 21	422 $\pm$ 82	1135 $\pm$ 118
+ GIP	118 $\pm$ 21	739 $\pm$ 92	1575 $\pm$ 158
+ Glukagon	110 $\pm$ 14	698 $\pm$ 65	1544 $\pm$ 138
+ GIP + Gluk.	124 $\pm$ 24	549 $\pm$ 112	1387 $\pm$ 218
5,5 mM Glukose	114 $\pm$ 36	141 $\pm$ 40	179 $\pm$ 65

*
p < 0,04

Tabelle 4: Der Einfluß von GIP (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) und Glukagon (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) auf die Insulinsekretion von 7 isolierten Ratteninseln während einstündiger Inkubation bei 11 mM Glukose. Das sezernierte Insulin wurde am Rattenstandard gemessen.
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 10-11

4.2. STUDIEN AN DER GG-DIAB MAUS

4.2.1. INSULINBIOSYNTHESE UND -SEKRETION (VERSUCHSREIHE D)

In dieser Versuchsreihe wurde das Biosynthese- bzw. Sekretionsverhalten isolierter Langerhans-scher Inseln von 100 Tage alten Mäusen der Linien gg-diab und gg-anti untersucht. Es wurde ebenfalls der Proteingehalt und Insulingehalt von Inseln bei der Gruppen bestimmt.

Der mittlere Insulingehalt der einzelnen Insel betrug $221 \mu\text{E}$ bei gg-diab und $214 \mu\text{E}$ bei gg-anti (am Schweineinsulinstandard gemessen) und unterschied sich somit in beiden Gruppen nicht signifikant. Auch die Insulinsekretion der isolierten Inseln war in vitro bei 5,5 und 11 mM Glukose sowie 11 mM Glukose plus Theophyllin nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 5).

Auffällig ist, daß beide Gruppen auf eine Erhöhung der Glukosekonzentration im Inkubationsmedium von 5,5 mM auf 11 mM mit relativ geringer Erhöhung der Insulinsekretion reagierten.

Durch Zugabe von Theophyllin wurden die Inseln beider Tiergruppen zu signifikant erhöhter Insulinfreisetzung angeregt.

Bei der Gruppe gg-diab fand sich eine gegenüber gg-anti signifikant höhere (Pro-)Insulinbiosyntheserate bei 11 mM Glukose (Abb. 3).

Die Gesamthormonbiosynthese (Einbau von ^3H -Leucin in Proinsulin plus Insulin) bei 11 mM Glukose lag bei gg-diab ($57051 \pm 4084 \text{ cpm}$) signifikant ($p < 0,05$) über der Gruppe gg-anti ($41814 \pm 2906 \text{ cpm}$).

Auch auf Zusatz von Theophyllin reagierten die Inseln der Gruppe gg-diab mit einem gegenüber gg-anti signifikant erhöhten ^3H -Leucin-Einbau (Abb.3).

Der Quotient Biosynthese/Sekretion (cpm pro μE sezerniertes Insulin) errechnete sich somit bei gg-diab mit 178 ± 19 höher als bei der Gruppe gg-anti (142 ± 26).

Bei 5,5 mM Glukose war die (Pro-)Insulinbiosynthese zwischen beiden Gruppen nicht unterschiedlich.

Der Proteingehalt der Inseln der diabetischen Mäuse war höher als der der Inseln der Kontrollgruppe ($0,95 \pm 0,07 \mu\text{g}$ pro Insel vs. $0,79 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{Insel}$). Die statistischen Berechnungen ergaben jedoch wahrscheinlich aufgrund der geringen Stichprobenanzahl ($n = 3$) keine signifikanten Unterschiede.

Insulinsekretion ($\mu\text{E}/20$ Inseln)

	0-Wert		1-Std		2-Std		3-Std	
	anti	diab	anti	diab	anti	diab	anti	diab
5,5 mM Glukose	91 $\pm$ 18	79 $\pm$ 11	135 $\pm$ 31	201 $\pm$ 34	226 $\pm$ 35	271 $\pm$ 45	318 $\pm$ 29	324 $\pm$ 44
11 mM Glukose	72 $\pm$ 24	100 $\pm$ 12	189 $\pm$ 34	298 $\pm$ 43	283 $\pm$ 49	288 $\pm$ 22	347 $\pm$ 56	334 $\pm$ 26
11 mM Glukose + Theophyllin	78 $\pm$ 26	86 $\pm$ 17	587 $\pm$ 17	635 $\pm$ 28	795 $\pm$ 52	751 $\pm$ 60	893 $\pm$ 55	824 $\pm$ 59

1
53
1

Tabelle 5: Insulinsekretion von 20 isolierten Langerhansschen β -Zellen der Linien

99-diab und 99-anti während 3stndiger Inkubation bei 5,5 mM, 11 mM und

11 mM Glukose plus Theophyllin (5 mmol/l)

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 3-8

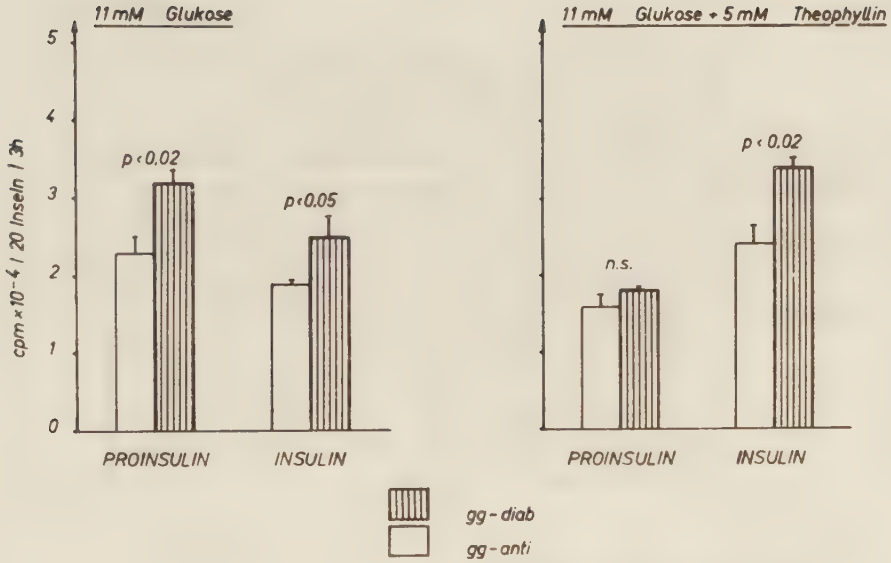


Abb. 3: (Pro-)Insulinbiosynthese (^3H -Leucineinbau in die Proinsulin- und Insulinfraktion) an 20 isolierten Mäuseinseln der Linie gg-diab bzw. gg-anti während Inkubation der Inseln für 3 Stunden bei 11 mM Glukose bzw. bei 11 mM Glukose + 5 mM Theophyllin.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 3-8$

4.2.2. FÜTTERUNGSVERSUCH

4.2.2.1. KÖRPERGEWICHT

Das Körpergewicht der Mäuse wurde während des Versuchs in 12 tägigem Abstand bestimmt. Das Gewicht der nicht-diabetischen Mäuse war zu Beginn des Fütterungsversuchs signifikant ($p < 0,0001$) niedriger als das der diabetischen (Abb. 4). Aus Abb. 4 geht hervor, daß saccharosereich gefütterte Tiere stärker an Gewicht zunahmen als normalgefütterte. Dieser Unterschied war bei den diabetischen Tieren jedoch nur zum Zeitpunkt 24 Tage signifikant ($p < 0,02$), das Gewicht der mit Saccharose gefütterten nicht-diabetischen Tiere lag ab dem 24. Tag zu jedem Zeitpunkt signifikant über dem Gewicht der normalgefütterten nicht-diabetischen Tiere.

4.2.2.2. BLUTZUCKER

Der Blutzucker (8 Uhr morgens, freier Zugang zu Futter) lag zu Versuchsbeginn bei gg-diab mit 156 ± 4 mg/dl über dem Wert von gg-anti (126 ± 3 , $p < 0,0001$).

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, ließ sich ein Einfluß von kohlenhydratreichem Futter auf den Blutzucker bei gg-diab nicht nachweisen.

Der bei gg-anti unter Saccharosefutter beobachtete Blutzuckeranstieg war zu keinem Zeitpunkt signifikant.

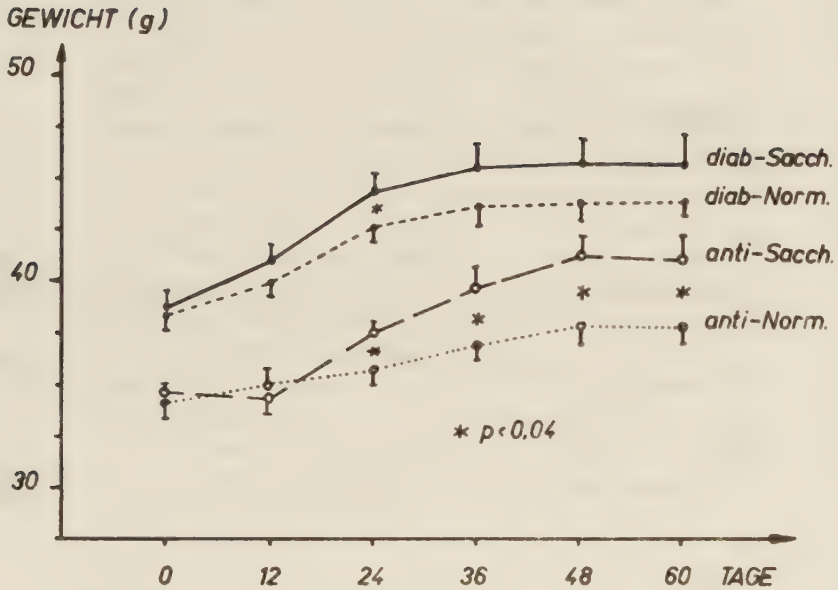


Abb. 4: Gewicht bei diabetischen (diab) und nicht diabetischen (anti) Mäusen während 8-wöchiger Fütterung mit saccharosereichem (Sacch) oder normalem (Norm) Futter.

Jede Untergruppe bestand aus 20 Tieren.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$

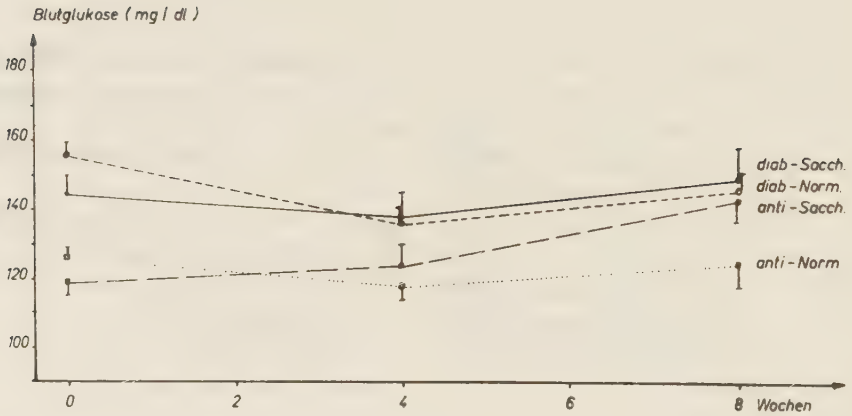


Abb. 5: Blutglukose bei diabetischen (diab)
und nicht diabetischen (anti) Mäusen
während 8-wöchiger Fütterung mit saccha-
rosereichem (Sacch) oder normalem
(Norm) Futter.

Jede Untergruppe bestand aus 20 Tieren.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$

4.2.2.3. SERUMINSULIN

Zu Versuchsbeginn wurden keine signifikant unterschiedlichen Seruminsulingehalte der einzelnen Gruppen festgestellt. Die im Verlauf des Versuchs gemessenen Werte sind in Abb. 6 aufgeführt. Danach stiegen die Seruminsulingehalte der Gruppe diab-Sacch zunächst an, nahmen jedoch nach der vierten Woche wieder ab. Das entspricht dem in Abb. 5 dargestellten Verlauf des Blutzuckerspiegels. Nach 4 Wochen lagen die Blutinsulinwerte der Gruppe diab-Sacch signifikant über denen der Gruppe anti-Sacch. Nach der vierten Woche traten keine signifikanten Unterschiede mehr auf. Aus den vorliegenden Ergebnissen läßt sich kein wesentlicher Einfluß von kohlenhydratreicher Diät auf den Blutinsulingehalt von latent diabetischen Mäusen der Linie gg-diab ableiten.

4.2.2.4. URINGLUKOSE

Die Bestimmung der Uringlukose wurde in 12 tägigem Abstand durchgeführt. Glukosurie konnte zu keinem Zeitpunkt in keiner der Versuchsgruppen festgestellt werden.

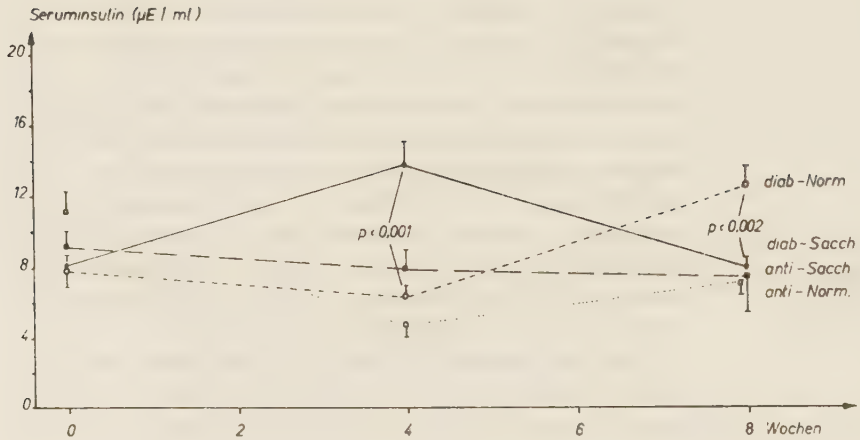


Abb. 6: Seruminsulin bei diabetischen (diab) und nicht diabetischen (anti) Mäusen während 8-wöchiger Fütterung mit saccharoseichem (Sacch) oder normalem (Norm) Futter.
Jede Untergruppe bestand aus 20 Tieren.
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$

4.2.2.5. CHOLESTERIN UND TRIGLYCERIDE

Die nach achtwöchiger Fütterung bestimmten Serumcholesterin- und Triglyceridwerte sind in Abb. 7 dargestellt.

Die höchsten Cholesterinwerte wurden in der Gruppe anti-Sacch gefunden. Sie waren signifikant höher als die Werte der Kontrollgruppe anti-N ($p < 0,0005$) und ebenfalls höher als die Werte der Gruppe diab-Sacch ($p < 0,02$).

Es läßt sich also ein Einfluß von kohlenhydratreicher Nahrung auf den Serumcholesterinspiegel ableiten, wobei der Anstieg besonders stark bei den nicht diabetischen Tieren auftrat.

Die höchsten Triglyceridwerte traten ebenfalls bei den saccharosereich gefütterten nicht diabetischen Tiere auf. Sie lagen grenzwertig signifikant höher ($p < 0,056$) als die Werte der normalgefütterten Kontrolle.

Ein Einfluß von saccharosehaltigem Futter auf die Triglyceridwerte der diabetischen Tiere bestand, wie Abb. 7 zeigt, nicht.

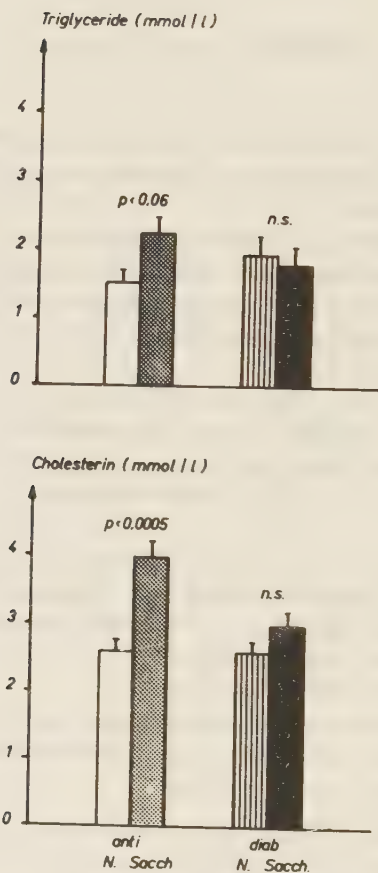


Abb. 7: Triglyceride und Cholesterin im Serum diabetischer (diab) und nicht diabetischer (anti) Mäuse nach 8-wöchiger Fütterung mit saccharosereichem (Sacch) oder normalem (N) Futter.
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 8-19$

4.2.2.6. FUNKTION DER INSELN NACH KOHLENHYDRAT- REICHER DIÄT (VERSUCHSREIHE E)

Die Untersuchungen der Inselfunktion in vitro nach einer achtwöchigen saccharosereichen Diät ergaben keine signifikanten Unterschiede des Biosyntheseverhaltens zwischen den isolierten Inseln aller vier Versuchsgruppen.

Wie aus Tabelle 6 hervorgeht war der ^3H -Leucin-einbau in die Proinsulin- bzw. Insulinfraction der Inseln der Gruppe diab-Sacch bei 11 mM Glukose am stärksten, jedoch war der Unterschied gegenüber den anderen Gruppen nicht signifikant. Die Biosynthesekapazität der Mäuseinseln bei 5,5 mM Glukose war in allen vier Gruppen ähnlich (Tabelle 6).

Die Sekretionsleistung der Inseln bei 5,5 mM Glukose im Inkubationsmedium war bei den diabetischen Tiergruppen (diab-Sacch, diab-N) niedriger als bei den nicht diabetischen. Die statistischen Berechnungen ergaben jedoch nur signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen diab-Sacch und anti-Sacch bzw. diab-Sacch und anti-N nach ein- und nach zweistündiger Inkubation.

Bei 11 mM Glukose konnten keine signifikanten Unterschiede im Sekretionsverhalten der Inseln gefunden werden (Tabelle 7).

³H-Leucineinbau (cpm)

	diab-Sacch	diab-N	anti-Sacch	anti-N
	11 mM Glukose			
Proinsulin	29506 ± 3931	18392 ± 3067	23023 ± 2927	24992 ± 3744
Insulin	30311 ± 3335	24190 ± 2463	22027 ± 2809	21272 ± 4076
	5,5 mM Glukose			
Proinsulin	17738 ± 1511	13912 ± 2789	16690 ± 3182	15790 ± 3152
Insulin	16678 ± 1697	14698 ± 730	14388 ± 1658	15576 ± 3323

Tabelle 6:

³H-Leucin-Einbau in die Proinsulin- und Insulinfraktion nach 3 stündiger Inkubation von 20 isolierten Inseln nach normaler (N) oder saccharoserreicher (Sacch) Fütterung bei zwei Tierlinien (diab, anti) bei 11 mM und 5,5 mM Glukose.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 5-12

Insulinsekretion ($\mu\text{E}/20$ Inseln)

	nach 1 Std	nach 2 Std	nach 3 Std
	5,5 mM Glukose		
diab-Sacch	259 $\pm$ 30]	295 $\pm$ 35]	453 $\pm$ 76
diab-Norm	390 $\pm$ 102 *]	436 $\pm$ 109 *]	512 $\pm$ 124
anti-Sacch	440 $\pm$ 76]	563 $\pm$ 66]	578 $\pm$ 42
anti-Norm	528 $\pm$ 84]	641 $\pm$ 94]	720 $\pm$ 128
	11 mM Glukose		
diab-Sacch	469 $\pm$ 53	530 $\pm$ 61	671 $\pm$ 74
diab-Norm	499 $\pm$ 87	552 $\pm$ 93	593 $\pm$ 127
anti-Sacch	431 $\pm$ 207	483 $\pm$ 213	565 $\pm$ 258
anti-Norm	568 $\pm$ 79	640 $\pm$ 149	842 $\pm$ 248

$p < 0,02$

Tabelle 7:

Insulinsekretion von 20 isolierten Mäuseinseln nach normalem oder saccharosereichem Futter bei den Tierlinien diab und anti während 3 stündiger Inkubation bei 5,5 mM oder 11 mM Glukose.

$\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 5-12$

5. DISKUSSION

5.1. GASTRIC INHIBITORY POLYPEPTIDE

Bereits 1965 postulierten MC INTYRE et al., daß ein gastrointestinaler Faktor die Insulinfreisetzung zusätzlich stimuliert, nachdem sie nach intraduodenaler Verabreichung von Glukose einen stärkeren Plasmainsulinanstieg beobachtet hatten als nach intravenöser Glukosegabe.

GIP gilt in der Gruppe der gastrointestinalen Polypeptide mit hormonähnlichen Eigenschaften als ein aussichtsreicher Kandidat für die Rolle des hypothetischen, speziell die Betazellfunktion regulierenden Hormons, "Inkretin".

Das Ergebnis, daß GIP nicht nur die Insulinsekretion sondern auch die Neusynthese des Hormons stimuliert, unterstreicht die besondere Rolle von GIP unter den gastrointestinalen Hormonen, im Hinblick auf die enteroinsuläre Achse (UNGER und EISENTRAUT 1969), d.h. die Beziehung zwischen Darmhormonen und endokriner Pankreasaktivität.

Andere gastrointestinale Hormone wie Sekretin, Pankreozymin und Gastrin haben keinen Effekt auf die Insulinbiosynthese, obwohl sie die Insulinfreisetzung teilweise stimulieren (SCHATZ et al. 1974).

GIP verhält sich demnach ähnlich wie Glukagon, das neben der Insulinsekretion auch die (Pro-)Insulinbiosynthese zu steigern vermag (SCHATZ et al. 1973). In Anbetracht der Tatsache, daß GIP auch in den A-Zellen des Pankreas lokalisiert werden konnte (SMITH 1978), kann angenommen werden, daß neben dem Glukagon auch dem GIP eine physiologische

Bedeutung für die Regulation der Insulinbiosynthese zukommt.

Die Sekretion von Insulin wurde durch GIP in stärkerem Maße stimuliert als die Biosynthese (Abb. 2). Die Erhöhung des ^3H -Leucineinbaus in die Proinsulin- und Insulinfraktion ist jedoch nicht als Folge einer gesteigerten Insulinsekretion anzusehen, sondern es dürfte sich um einen direkten Einfluß von GIP auf die Synthese handeln. Es wurde nämlich wiederholt gezeigt, daß die Insulinsekretion Langerhansscher Inseln gesteigert werden kann, z.B. durch Pankreozymin (SCHATZ et al. 1974), Sulfonylharnstoff oder Arginin (SCHATZ et al. 1975) oder hemmbar ist, z.B. durch Calciumentzug (HINZ et al. 1971, STEINER et al. 1972) ohne daß eine gleichzeitige Stimulierung bzw. Inhibierung der (Pro-)Insulinbiosynthese auftritt.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde demonstriert, daß eine kombinierte Stimulation der Inseln mit GIP und Glukagon, in gleicher äquipotenter Konzentration, zu keiner zusätzlichen Sekretionssteigerung führt (Tabelle 4). Da der Anstieg im Vergleich zur Glukosekontrolle sogar geringer war als der, der mit der Zugabe der einzelnen Hormone erzielt wurde, liegt die Vermutung nahe, daß sich GIP und Glukagon in ihrer insulinfreisetzenden Wirkung beeinträchtigen.

Ähnliche Effekte beider Hormone fanden EBERT und BROWN (1976) an isolierten Fettzellen, wo GIP die durch Glukagon induzierte Erhöhung des c-AMP-Spiegels blockierte, wobei sie eine Verdrängung des Glukagons von den Bindungsstellen der Plasma-

membran der Fettzelle diskutierten.

Durch intravenöse Verabreichung von GIP und Glukagon, fanden auch AHREN et al. (1979), daß bei Verabreichung beider Peptide die insulinfreisetzende Wirkung die gleiche war, wie wann jedes Hormon einzeln appliziert wurde. Dies war der Fall mit maximalen, halbmaximalen und auch unterschwelligen Dosen der beiden Peptide. Die Autoren diskutieren, daß unter normoglykämischen Bedingungen zwischen GIP und Glukagon ein Antagonismus in Bezug auf den insulinfreisetzenden Effekt besteht.

Die Effekte von GIP und Glukagon in vitro wurden bei im Vergleich zu den physiologischen Hormonspiegeln stark erhöhten Peptidkonzentrationen (5 ug/ml) beobachtet. Diese "pharmakologischen" Konzentrationen der Hormone könnten die Aussagekraft dieser Versuche einschränken. Man muß jedoch bedenken, daß bei der unmittelbaren Nähe von Alpha- und Betazellen innerhalb der Inseln die Betazellen physiologischerweise einer ungleich höheren Glukagonkonzentration ausgesetzt sind als sie im peripheren Kreislauf gemessen wird. Dies mag auch für GIP gelten, da dieses Peptid in jüngster Zeit auch in den Alphazellen der Inseln nachgewiesen wurde (SMITH 1978).

Eine andere, vielleicht weniger spekulative Erklärung für den Unterschied zwischen peripheren Hormonspiegeln und den Konzentrationen, die bei der Inseln in vitro nötig sind, um Stimulations-effekte zu erzielen, bietet die Tatsache, daß die durch Kollagenase isolierten Inseln eine teilweise geschädigte Zellmembran aufweisen (SIERADZKI et al. 1975, NORFLEET et al. 1975).

Es wird ein Verlust der Membranrezeptoren diskutiert (NORFLEET et al. 1975). Diese Annahme

wird durch die Untersuchungen von PEDERSON und BROWN (1976) unterstützt, die am perfundierten Rattenpankreas bereits mit einer GIP-Konzentration von 1 ng/ ml eine deutliche Stimulation der Insulinsekretion erreichten. Diese Hormonkonzentration wird bei normalen Probanden im peripheren Kreislauf gemessen (CROCKETT et al. 1976a).

Im Gegensatz dazu fanden HAFFEN et al. (1977), daß eine GIP-Konzentration von 1 ug/ ml nötig ist, um eine Potenzierung der glukoseinduzierten Insulinsekretion durch GIP an isolierten Langerhansschen Mäuseinseln zu erreichen.

Auch die Ergebnisse von SCHAUDER et al. (1975) deuten darauf hin, daß bei Versuchen an kollagenaseisolierten Inseln eine GIP-Konzentration von mindestens 1 ug/ml nötig ist, um die Insulinfreisetzung signifikant zu erhöhen. Hingegen konnten FUJIMOTO et al. (1978) bereits mit physiologischen GIP-Konzentrationen eine Stimulation der Insulinsekretion an Monolayer-Kulturen von Zellen des Pankreas demonstrieren.

Alle diese Ergebnisse sprechen dafür, daß die Ansprechbarkeit der durch Kollagenase frisch isolierten Inseln auf GIP eingeschränkt ist.

GIP steigerte die Biosynthese und Sekretion von Insulin sowohl bei 11 mM als auch bei 5,5 mM Glukose im Inkubationsmedium in Versuchsreihe A. Eine Stimulierung der Hormonfreisetzung durch GIP an isolierten Inseln wurde von den meisten Autoren erst bei einer Glukosekonzentration oberhalb von 5,5 mM beobachtet (SCHAUDER et al. 1975, 1977, HAFFEN et al. 1977, TAMINATO et al. 1977). Jedoch konnten PEDERSON und BROWN (1976) am perfundierten Rattenpankreas bereits bei einer Glukosekonzentra-

tion von 5,5 mM eine Potenzierung der Insulinsekretion nachweisen. FUJIMOTO et al. (1978) fanden sogar einen signifikanten Anstieg der Hormonfreisetzung durch GIP an Monolayer-Kulturen bei einer Glukosekonzentration von 1,7 mM. Diese Autoren beschreiben auch einen Einfluß eines Aminosäuregemisches auf den insulinfreisetzenden Effekt von GIP.

Sie fanden einen geringeren Stimulationseffekt von GIP sowohl auf die Insulin- als auch auf die Glukagonsekretion bei 16,5 mM Glukose wenn Aminosäuren im Medium vorhanden waren.

Die von uns gefundenen Ergebnisse (Versuchsreihe B) zeigten keinen wesentlichen Einfluß des Aminosäuregemisches auf die durch GIP potenzierte Insulinabgabe der Inseln bei beiden Glukosekonzentrationen, 5,5 mM und 11 mM. Die Resultate von FUJIMOTO et al. (1978) wurden an Monolayer-Kulturen gefunden, so daß ein direkter Vergleich mit an isolierten Inseln erhaltenen Versuchsergebnissen nur bedingt möglich ist.

Bei 5,5 mM Glukose konnte in Versuchsreihe B keine durch GIP erhöhte Insulinsekretion nachgewiesen werden. Möglicherweise ist hier die geringe Stichprobenanzahl von $n = 5$ von Bedeutung. Eine andere Erklärung könnte die Tatsache sein, daß diese Versuchsserie mit einer neuen Kollagenasecharge durchgeführt wurde, so daß die Inseln der Versuchsreihe A durch den Isolationsprozeß eventuell weniger verändert worden sind (SIERADZKI et al. 1975, NORFLEET et al. 1975).

Es ist in vitro (SCHAUDER et al. 1975, PEDERSON et al. 1976, HAFFEN et al. 1977) und in vivo

(ANDERSEN et al. 1978b) nachgewiesen worden, daß der insulinogene Effekt von GIP streng glukoseabhängig ist, d.h. erhöhte Serum-GIP-Spiegel bewirken keine Insulinfreisetzung bei Euglykämie. Da eine Glukosekonzentration von 5,5 mM schon als erhöht betrachtet werden kann, im Vergleich zu dem Nüchternblutzuckerspiegel, stimmen die vorliegenden Ergebnisse mit gegenwärtigen Konzepten der GIP-Wirkung auf die Insulinfreisetzung überein (CREUTZFELDT 1979).

5.2. GG-DIAB MAUS

Viele experimentelle Befunde über die Auswirkung eines Insulinmangels auf den Stoffwechsel wurden an Tiermodellen durchgeführt, die durch die betazellschädigende Substanzen wie Alloxan oder Streptozotocin in einen akuten Insulinmangelzustand versetzt wurden. Bei diesen Tiermodellen besteht jedoch der diabetische Zustand meist nur eine relativ kurze Zeit. Außerdem ist von Nachteil, daß die zytotoxische Wirkung dieser Substanzen sich nicht nur gegen die Betazellen der Langerhansschen Inseln richtet, sondern daß auch andere Gewebe, insbesondere die Niere, angegriffen werden.

Erst die Züchtung genetisch hyperglykämischer Laboratoriumstiere erbrachte Modelle, die eingehendere Untersuchungen zur Pathogenese des Diabetes mellitus ermöglichen.

Die Selektionierung des Mäusestammes Q in Richtung auf eine verzögerte Glukoseverwertung ergab innerhalb von mehreren Generationen eine Fixierung des K-Wertes bei gg-diab von 20% unter dem Ausgangswert, bei gg-anti von 25% darüber (PFAFF et al. 1978). Die Stoffwechsellage der männlichen gg-diab Mäuse im Alter von etwa 100 Tagen ist durch die Parameter Hyperglykämie und erniedrigter K-Wert ohne Glukosurie und Fettsucht gekennzeichnet. Diese Form des latenten Diabetes mellitus ist durch einen relativen Insulinmangel infolge eines Sekretionsdefekts bedingt (GÄRTNER et al. 1976). Ähnlich der Stachelmaus (*Acomys cahirinus*) zeigt die gg-diab Maus keinen Anstieg des Blutinsulingehalts nach Glukosebelastung (STAUF=

FACHER et al. 1970, CAMERON et al. 1972).
Eine Insulinresistenz des peripheren Gewebes besteht bei der gg-diab Maus wahrscheinlich nicht.

Um den in vivo nachgewiesenen Sekretionsdefekt (GÄRTNER et al. 1976) dieses Diabetesmodells näher zu untersuchen, bot sich die Überprüfung der Biosynthese- und Sekretionskapazität der isolierten Langerhansschen Inseln in vitro an. Neben Glukose wurde als zusätzlicher Stimulator der Sekretion und Biosynthese von Insulin Theophyllin eingesetzt, eine Substanz, die den c-AMP-Spiegel erhöht (TURTLE et al. 1967), welcher wahrscheinlich in dem glukosegesteuerten Regelkreis der Insulinfreisetzung eine Rolle spielt (BRISSON et al. 1972).

Die Inseln der diabetischen Mäuse reagierten bei erhöhtem Glukosereiz (11 mM) und bei Zusatz von Theophyllin mit einem verstärkten ³H-Leucin-Einbau in die Proinsulin- und Insulinfraktion (Abb. 3) im Vergleich zur nicht diabetischen Kontrolle.

Das Sekretionsverhalten der Inseln war in beiden Versuchsgruppen identisch. Zwischen der Insulinausschüttung bei 5,5 mM und 11 mM Glukose bestand ein relativ geringer Unterschied (Tabelle 5). Dementsprechend wurden zur Stimulierung der Insulinsekretion bzw. auch der -Biosynthese bei Mäuseinseln in der Literatur Glukosekonzentrationen von 25 mM und mehr eingesetzt (BEIGELMAN et al. 1973, TRUEHEART et al. 1976).

Histologische Untersuchungen des Pankreas der gg-diab Maus und der Kontrolle gg-anti zeigen bei jungen Tieren (100 Tage und jünger) keine Unterschiede in Zahl, Form und Größe der Langerhansschen Inseln. Auch der Insulingehalt pro Pankreas ist in diesem Alter in beiden Gruppen noch identisch (GÄRTNER et al. 1976).

In unseren Versuchen konnten wir ebenfalls zeigen, daß der mittlere Insulin- und Proteingehalt der einzelnen Insel der diabetischen Mäuse im Alter von ca. 100 Tagen nicht signifikant von den Werten der Kontrolle abweicht.

Bei älteren gg-diab Mäusen (200-400 Tage) tritt mit einer Hyperplasie und Hypertrophie der Inseln auch gleichzeitig ein signifikant erhöhter Pankreasinsulingehalt auf (GÄRTNER et al. 1976).

Man kann aus all diesen Ergebnissen ableiten, daß einmal eine erhöhte (Pro-)Insulinsyntheserate, zum anderen die kompensatorische Hypertrophie der Betazellen und Hyperplasie der Langerhansschen Inseln im Pankreas der diabetischen Mäuse einen primären Sekretionsdefekt der Betazelle (wie er nach heutigen Vorstellungen ja auch beim Erwachsenen-diabetiker existiert) weitgehend kompensieren kann, so daß die laborchemischen Veränderungen des latenten Diabetes mellitus mit zunehmendem Alter aufgehoben werden.

Nach den bisher gefundenen Ergebnissen schien die Frage interessant, inwieweit die genetisch bedingte latent diabetische Stoffwechsellaage der gg-diab Mäuse durch einen zusätzlichen diabetogenen Nahrungsfaktor beeinflusst wird.

Durch Fütterung einer saccharosereichen Diät sollte

bei den Tieren der gg-diab Linie ein eventuell manifest diabetischer Zustand provoziert werden. Die Wahl einer Kostform mit einem Gehalt von 68% Saccharose entspricht natürlich extremen Situationen, doch auch beim Menschen tragen solche exogenen Faktoren ebenfalls zur Pathogenese des Diabetes mellitus bei (COHEN et al. 1961). Die Stoffwechsellaage der einzelnen Tiergruppen während der Fütterung wurde durch die Bestimmung der Parameter Gewicht, Blutglukose, Seruminsulin und Uringlukose überprüft. Ein Problem war die mehrfache Entnahme ausreichender Blutmengen ohne Beeinträchtigung der Versuchstiere.

Da durch Manipulation am Tier der Blutglukosespiegel infolge Adrenalin ausschüttung verändert werden kann, wurde die Versuchsdurchführung standardisiert, indem das Blut immer zum gleichen Zeitpunkt und immer von der gleichen Person retro-orbital in wenigen Sekunden entnommen wurde.

Die Körpergewichte der diabetischen Tiere liegen um ca. 12% höher als die der Kontrolltiere. Auch KETTENDÖRFER (1976) fand ein um 15-20% höheres Gewicht der gg-diab Mäuse im Vergleich zu gg-anti, wobei jedoch aufgrund der Fettbestimmung bei den gg-diab Mäusen keine Adipositas nachgewiesen werden konnte.

Saccharosereiches Futter induzierte in beiden Versuchsgruppen eine Gewichtszunahme (Abb.4), die bei den nicht diabetischen Tieren ausgeprägter war als bei den diabetischen.

LAUBE (1976) beschreibt bei saccharosegefütterten Ratten ebenfalls eine Erhöhung des Körpergewichts durch eine signifikante Zunahme von retro- und

intraperitonealem Fettgewebe und eine Vermehrung des Fettgehaltes in der Leber.

Die Blutglukosekonzentrationen lagen zu Versuchsbeginn bei den diabetischen Tieren signifikant über den Werten der nicht diabetischen Tiere. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von GÄRTNER et al. (1976) und KETTENDÖRFER (1976) überein. Bei der Beurteilung des Einflusses von saccharosereichem Futter auf den Blutzuckerspiegel muß berücksichtigt werden, daß die erhaltenen Werte große Streuungen aufweisen (Abb.5). Lediglich in der Gruppe anti-Sacch kann man einen kontinuierlich ansteigenden Glukosespiegel demonstrieren, wobei die statistischen Berechnungen jedoch keine signifikanten Unterschiede ergaben. Ein wesentlicher Einfluß unserer Diät auf den Blutzucker läßt sich daher in keiner der Versuchsgruppen ableiten.

LAUBE et al. (1972) fanden bei männlichen Wistar-Ratten signifikant erhöhte postprandiale Blutzuckerwerte im Pfortaderblut wie auch in der Vena jugularis nach rohrzuckerreicher Diät im Vergleich zu den Blutzuckerspiegeln von mit Stärke gefütterten Tieren.

Die mittleren Seruminsulingehalte der diabetischen Tiere lagen zu Beginn des Fütterungsversuchs etwas unter denen der Kontrolltiere, der Unterschied war jedoch nicht statistisch zu sichern.

Die mit Saccharose gefütterten Gruppen haben im Durchschnitt einen höheren Blutinsulingehalt (nicht signifikant höher) als die normalgefügterten Kontrollen (Abb. 6), was für die in der Literatur diskutierte insulinotrope Wirkung

des Rohrzuckers spricht (LAUBE et al. 1972, 1973b).

Da sich die von uns gefundenen Werte jedoch nur unwesentlich von denen der normalgefütterten Kontrollgruppen unterscheiden, ist es wohl eher wahrscheinlich, daß es sich um zufällige im Normbereich liegende Abweichungen handelt und nicht um einen direkten Effekt der Saccharose. Auch aus Untersuchungen von WINAND und CHRISTOPHE (1977) an Obesitas-Mäusen geht nicht hervor, daß eine Saccharose-Diät im Vergleich zur Stärke- bzw. Glukose-diät einen höheren Seruminulinspiegel induziert, sie verursachte sogar von allen drei Diätformen die niedrigsten Blutinsulinwerte nach einer 45 tågigen Fütterung.

Die mit Saccharose gefütterten Kontrollmäuse (nicht diabetisch) zeigten nach achtwöchiger Versuchsdauer signifikant erhöhte Triglycerid - und Cholesterinspiegel. Bei den diabetischen Tieren konnten keine erhöhten Triglyceridwerte gefunden werden, die ebenfalls durch Rohrzucker erhöhten Cholesterinwerte waren nicht so ausgeprägt wie bei den nicht diabetischen Kontrollmäusen (Abb.7).

Eine kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie wurde von mehreren Autoren sowohl bei Ratten (LAUBE et al. 1973a, KALOPISSIS et al. 1979) als auch bei Menschen (COHEN 1967, FARQUAR et al. 1966, LAUBE et al. 1973c) beschrieben.

Von vielen Forschern wurde die Beziehung zwischen erhöhten Serumlipidspiegeln und der Häufigkeit der Arteriosklerose und coronarer Herzerkrankungen hervorgehoben (TURPEINEN et al. 1968, WOLLENWEBER et al. 1971).

Der Diabetes mellitus, eine Krankheit mit oft über lange Zeit erhöhten Spiegeln an LDL (low density lipoproteins) und VLDL (very low density lipoproteins) geht daher oft mit einer vorzeitigen Arteriosklerose einher.

Die Untersuchungen der Inseln in vitro nach der achtwöchigen saccharosereichen Fütterung ließen keinen wesentlichen Einfluß dieser Diät auf die Sekretions- und Biosynthesekapazität der isolierten Inseln erkennen.

Andere Autoren beschreiben eine insgesamt vermehrte Sekretionsleistung der Betazelle nach Saccharosefütterung, wobei jedoch nur die sogenannte Spätreaktion gesteigert war, wie am isoliert perfundierten Rattenpankreas demonstriert werden konnte (LAUBE et al. 1975). Die rasch einsetzende Sofortreaktion im biphasischen Verlauf der Insulinsekretion (GRODSKY et al. 1969) erscheint dabei hingegen vermindert (LAUBE et al. 1975). Die Zunahme der Insulingesamtsekretion nach Saccharosefütterung war bei diesen Autoren mit einer gesteigerten Hormonbiosynthese korreliert (LAUBE et al. 1975).

Die diabetischen Mäuse zeigten eine gegenüber gg-anti signifikant höhere (Pro-)Insulinbiosyntheserate bei 11 mM Glukose. Auch nach der achtwöchigen Fütterung hatte die Gruppe diab-N einen stärkeren ³H-Leucin-Einbau in die Insulinfraktion im Vergleich zur Gruppe anti-N, die statistischen Berechnungen ergaben jedoch keine signifikanten Unterschiede, was möglicherweise auf die teilweise geringe n-Zahl (n = 5-9) zurückgeführt werden kann (Tabelle 6).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß saccharosereiche Diät während 8 Wochen nicht zum manifesten Diabetes führte, was gegen einen spezifisch diabetogenen Effekt der Saccharose (COHEN und TEITELBAUM 1964, LAUBE et al. 1972) bei dem Mäusestamm gg-diab spricht. Es ist außerdem zu berücksichtigen, daß die Maus in hohem Maße die Fähigkeit zur Hyperplasie und Hypertrophie mindestens der Betazellen der Insel besitzt. Das führt bei den verschiedensten Hyperglykämie modellen der Maus (Obesitas-Maus, Diabetes-Maus, gelbe fettstüchtige Maus, KK-Maus und gg-diab-Maus) zu kompensatorischen Anpassungszuständen.

Lediglich im Genom des Mäusestammes C 57BL/KsJ fehlt die genetische Information für die Ausbildung der kompensatorischen Hypertrophie und Hyperplasie, was dann, ähnlich wie beim Menschen zur Ausbildung der klassischen diabetischen Symptomatologie führt (COLEMAN und HUMMEL 1974). Weiterhin wird bei Ratte und Maus eine etwaige Manifestierung eines Diabetes durch Verabreichung von kohlenhydratreichen Diäten dadurch erschwert, daß diese Nager im Gegensatz zum Menschen keine postprandiale Anflutung zum Kohlenhydrat- und Fettintermediärstoffwechsel haben, da die meisten Futterformen bei diesen Tieren im Vormagen gespeichert werden und die Ausflußrate aus dem Magen im großen Ganzen mit dem aktuellen Energiebedarf der Tiere korreliert ist (KUNSTYR et al. 1976, GÄRTNER und PFAFF, im Druck).

Trotzdem gelang es COHEN et al. (1972), Ratten mit einem manifesten Diabetes mellitus zu züchten, wenn jeweils die Tiere selektioniert und weiter gepaart wurden, die nach längerer Ernährung mit

Saccharose die schlechteste Glukosemetabolisierung hatten.

Die Ergebnisse gestatten folgende abschließende Wertung des Tiermodells gg-diab im Bezug auf die Brauchbarkeit für die experimentelle Diabetesforschung:

Die Züchtung normaler Mäuse mit ursprünglich tiefnormalem K-Wert führt nach mehreren Generationen zu einer eindeutig pathologischen Glukosetoleranz.

Offenbar kann aber eine erhöhte (Pro-)Insulinsyntheserate den primären Sekretionsdefekt der Betazelle dieser Tiere längere Zeit weitgehend kompensieren.

Die Provozierung eines manifesten Diabetes mellitus durch Verabreichung eines diabetogenen Nahrungsfaktors scheint jedoch bei der Linie gg-diab nicht zu gelingen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Zum Studium der Insulinbiosynthese und -Sekretion in vitro wurde der Einfluß von enterohormonalen Faktoren (gastric inhibitory polypeptide, Glukagon), hereditären Faktoren (Mäusemodell gg-diab) und nutritiven Faktoren (saccharosereiches Futter) untersucht.

1. Der Einfluß von gastric inhibitory polypeptide (GIP) auf die (Pro-)Insulinbiosynthese (Einbau von ^3H -Leucin) und Insulinsekretion wurde an kollagenase-isolierten Ratteninseln während 3 stündiger Inkubation bei 5,5 und 11 mM Glukose geprüft.
GIP steigerte den ^3H -Leucin-Einbau und die Insulinsekretion bei beiden Glukosekonzentrationen.
2. In einer zweiten Versuchsserie wurde die Wirkung von Aminosäuren auf den insulinotropen Effekt von GIP an isolierten Ratteninseln getestet.
Es konnte kein Einfluß des Aminosäuregemisches auf die durch GIP erhöhte Insulinsekretion demonstriert werden.
3. Weitere Versuche zeigten, daß jedes der beiden Hormone GIP und Glukagon die Insulinausschüttung signifikant erhöht.
Eine kombinierte Stimulation der Insulinsekretion an isolierten Ratteninseln durch beide Hormone gemeinsam erbrachte keinen zusätzlichen Effekt.

4. Da GIP, ähnlich wie Glukagon, neben der Insulinsekretion auch die (Pro-)Insulinbiosynthese zu steigern vermag, kann angenommen werden, daß auch dem GIP eine physiologische Bedeutung für die Regulation der Insulinbiosynthese zukommt.
5. Es konnte in vitro gezeigt werden, daß Mäuse der Linie gg-diab eine gegenüber der Kontrolle gg-anti signifikant höhere (Pro-)Insulinbiosyntheserate bei 11 mM Glukose aufweisen. Auch auf Zusatz von Theophyllin reagierten die Inseln der Gruppe gg-diab mit einem gegenüber gg-anti signifikant erhöhten ^3H -Leucin-Einbau. Im Sekretionsverhalten unterscheiden sich die Langerhansschen Inseln beider Tiergruppen nicht voneinander. Wesentliche Unterschiede im Insulin- und Proteingehalt der Inseln beider Linien bestehen nicht.
6. Mäuse der Linie gg-diab und gg-anti erhielten 8 Wochen lang jeweils zur Hälfte saccharosereiches bzw. normales Futter. Während des Versuchs wurden Körpergewicht, Blutzucker, Seruminsulin und Uringlukose bestimmt. Am Ende wurden Serumcholesterin- und Triglyceridwerte gemessen, sowie die Inseln funktion in vitro überprüft. Unter Normalfütterung lag der Blutzucker bei gg-diab signifikant über dem von gg-anti. Eine etwaige Manifestierung der latent diabetischen Stoffwechsellage der gg-diab-Mäuse durch saccharosereiches Futter konnte nicht demonstriert werden.

Auch die Untersuchungen der Inselfunktion in vitro nach der Diät ergaben keine signifikanten Unterschiede im Biosynthese- und Sekretionsverhalten der isolierten Inseln der einzelnen Gruppen.

Die genetisch bedingte Glukoseintoleranz der gg-diab-Mäuse scheint also durch einen zusätzlichen diabetogenen Nahrungsfaktor nicht weiter abzunehmen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

AHREN, E., HAKANSON, R., LUNDQUIST, I. and SUNDLER, F.:
GIP and glucagon in pancreas: Effects on insulin
secretion.

Eingereicht als Abstract zum 10. Internationalen
Diabeteskongreß in Wien, September 1979

ANDERSEN, D.K., ELAHI, D., BROWN, J.C., DEBAS, H.T.,
TOBIN, J.D., ANDRES, R.:

Insulin and glucagon response to infusion of gastric
inhibitory polypeptide (GIP) in man during controlled
glycemia.

Scand. J. Gastroenterol. (Suppl. 49), 13, 7 (1978b)

ANDERSEN, D.K., ELAHI, D., BROWN, J.C., TOBIN, J.D., ANDRES, R.:
Oral glucose augmentation of insulin secretion.

J. Clin. Invest., 62, 152-161 (1978a)

ANDERSEN, D.K., TOBIN, J.D., ANDRES, R.:

Gastric inhibitory polypeptide release after oral
glucose and quantification of its role in insulin
(IRI) secretion in states of glucose intolerance.

Clin. Research, 24/3, 355 (1976)

ARNOULD, Y., BELLENS, R., FRANCKSON, J.R.M., CONARD, V.:

Insulin response and glucose-C¹⁴ disappearance rate
during the glucose tolerance test in the unanesthetized
dog.

Metabolism 12, 1122-1131 (1963)

BEIGELMAN, P.M., SHU, M.J. and THOMAS, L.J.:

Insulin from individual isolated mouse islets of
Langerhans.

Biochem. Med. 7, 91-96 (1973)

BERDANIER, C.D.:

Metabolic abnormalities in BHE rats
Diabetologia 10, 691-695 (1974)

BIELSCHOWSKY, M., BIELSCHOWSKY, F.:

The New Zealand strain of obese mice. Their response to stilboestrol and to insulin.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 34, 181-198 (1976)

BLOOM, S.R.:

GIP in diabetes
Diabetologia 11, (Abstr.), 334 (1975)

BOTHA, J.L., VINIK, A.J. and BROWN, J.C.:

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) in chronic pancreatitis
Clin. Endocrinol. Metab. 42, 791-797 (1976)

BRISSON, G.R., MALAISSE-LAGAE, F. and MALAISSE, W.J.:

The stimulus-secretion coupling of glucose-induced insulin release. VII. A proposed site of action for adenosine-3', 5'-monophosphate
J. Clin. Invest. 51, 232-241 (1972)

BROWN, J.C.:

A gastric inhibitory polypeptide. I. The amino acid composition and the tryptic peptides
Can. J. Biochem. 49, 255-261 (1971)

BROWN, J.C., DRYBURGH, J.R.:

A gastric inhibitory polypeptide II: The complete amino acid sequence
Can. J. Biochem. 49, 867-872 (1971)

BROWN, J.C., DRYBURGH, J.R., ROSS, S.A. and DUPRE, J.:
Identification and actions of gastric inhibitory
polypeptide

Recent Prog. Horm. Res. 31, 487-526 (1975)

BROWN, J.C., MUTT, V. and PEDERSON, R.A.:

Further purification of a polypeptide demonstrating
enterogastrone activity

J. Physiol. 209, 57-64 (1970)

BROWN, J.C., OTTE, S.C.:

Gastrointestinal hormones and control of insulin
secretion

Diabetes 27, 782-787 (1978)

BROWN, J.C., PEDERSON, R.A.:

GI hormones and insulin secretion

Excerpta Medica 403, 568-570 (1977)

BROWN, J.C., PEDERSON, R.A., JORPES, J.E., MUTT, V.:

Preparation of a highly active enterogastrone

Canad. J. Physiol. Pharmacol. 47, 113-114 (1969)

BRUNK, R.:

Spontandabetes bei Tieren. In: Handb. exp. Pharma=
kol. Bd. XXXII/1, p. 203-273, Hrsg. DÖRZBACH, E.

Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971

CAMERON, D.P., STAUFFACHER, W., ORCI, L., AMHERDT, M.,
RENOLD, A.E.:

Defective immunoreactive insulin secretion in the
Acomys cahirinus

Diabetes 21, 1060-1071 (1972)

CATALAND, C., CROCKETT, S.E., BROWN, J.C. and MAZZA=FERRI, E.L.:

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulation by oral glucose in man.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 39, 223-228 (1974)

CARPENTER, K.J., MAYER, J.:

Physiologic observations on yellow obesity in the mouse

Amer. J. Physiol. 193, 499-504 (1958)

CARROL, K.F. and NESTEL, P.J.:

Effect of long-chain triglyceride on human insulin secretion

Diabetes 21, 923-929 (1972)

CHANG, A.Y. and SCHNEIDER, D.J.:

Abnormalities in hepatic enzyme activities during development of diabetes in db mice

Diabetologia 6, 274-278 (1970)

CHISHOLM, D.J., YOUNG, J.D. and LAZARUS, L.:

The gastrointestinal stimulus to insulin release. I. Secretin

J. Clin. Invest. 48, 1453 (1969)

CLEATOR, I.G.M., GOURLAY, R.H.:

Release of immunoreactive gastric inhibitory polypeptide (IRGIP) by oral ingestion of food substances

Amer. J. Surg. 130/2, 128-135 (1975)

COHEN, A.M.:

Effect of dietary carbohydrate on the glucose tolerance curve in the normal and the carbohydrate-induced hyperlipemic subject

Amer. J. Clin. Nutr. 20, 126-130 (1967)

COHEN, A.M.:

Genetically determined response to different ingested carbohydrates in the production of diabetes. Horm. Metab. Res. 10, 86-92 (1978)

COHEN, A.M., BAVLY, S., POZNANSKI, R.:

Change of diet of yemenite jews in relation to diabetes and ischaemic heart-disease Lancet 2, 1399-1401 (1961)

COHEN, A.M. and TEITELBAUM, A.:

Effect of dietary sucrose and starch on oral glucose tolerance and insulin-like activity Am. J. Physiol. 206, 105-108 (1964)

COHEN, A.M., TEITELBAUM, A., BALOGH, M., GROEN, J.J.:

Effect of interchanging bread and sucrose as main source of carbohydrate in a low fat diet on the glucose tolerance curve of healthy volunteer subjects Am. J. Clin. Nutr. 19, 59-62 (1966)

COHEN, A.M., TEITELBAUM, A., SALITERNIK, R.:

Genetics and diet as factors in the development of diabetes mellitus. An experimental model Metabolism 21, 235-240 (1972)

COLEMAN, D.L. and HUMMEL, K.P.:

Studies with the mutation diabetes in the mouse Diabetologia 3, 238-248 (1967)

COLEMAN, D.L., HUMMEL, K.P.:

The mutation diabetes in the mouse. In: Diabetes Proc. Sixth Congr. Int. Diab. Fed. ed. ÖSTMAN, J. Excerpta Medica Foundation, p. 813-820, Amsterdam 1969

COLEMAN,D.L.,HUMMEL,K.P.:

Hyperinsulinemia in preweaning diabetes (db) mice
Diabetologia 10, 607-610 (1974)

CREUTZFELDT,W.:

Insulin-releasing factors of the gastrointestinal
mucosa (incretin)

Gastroenterology 67, 748-750 (1974)

CREUTZFELDT,W.:

The incretin concept today

Diabetologia 16, 75-85 (1979)

CREUTZFELDT,W.,EBERT,R.,WILLMS,B.,FRERICHS,H.

and BROWN,J.C.:

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin
in obesity: Increased response to stimulation and
defective feedback control of serum levels

Diabetologia 14, 15-24 (1978)

CREUTZFELD,W.,FEURLE,G.,KETTERER,H.:

Effect of gastrointestinal hormones on insulin
and glucagon secretion

N. Engl. J. Med. 282, 1139-1141 (1970)

CROCKETT,S.E.,CATALAND,S.,FALKO,J.M.,MAZZAFERRI,E.L.:

The insulinotropic effect of endogenous gastric
inhibitory polypeptide in normal subjects

J. Clin. Endocr. Metab. 42/6, 1098-1103 (1976a)

CROCKETT,S.E.,MAZZAFERRI,E.L. and CATALAND,S.:

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) in maturity-
onset diabetes mellitus

Diabetes 25, 931-935 (1976b)

DECKERT, T.:

Stimulation of insulin secretion by glucagon
and secretin

Acta Endocrinol. 57, 578 (1968)

DICKIE, M.M.:

A new viable yellow mutation in the house mouse

J. Hered. 53, 84-86 (1962)

DULIN, W.E., WYSE, B.M.:

Insulin secretion in early diabetic animals:
in vivo studies

Advances in metabolic disorders, Suppl.1 Early diabetes,
eds. CAMERINI-DAVALLOS, R.A., COLE, H.S.
p. 71-77, New York, London, Academic Press (1970a)

DULIN, W.E., WYSE, B.M.:

Diabetes in the KK mouse

Diabetologia 6, 317-323 (1970b)

DUNNIGAN, M.G., FYEE, T., MCKIDDIE, M.T., GROSBIE, S.M.:

The effect of isocaloric exchange of dietary starch
and sucrose on glucose tolerance, plasma insulin
and serum lipids in man

Clin. Sci. 38, 1-9 (1970)

DUPRE, J., RUSS, S.A., WATSON, D., BROWN, J.C.:

Stimulation of insulin secretion by gastric in-
hibitory polypeptide in man

J. Clin. Endocr. 37, 826-828 (1973)

EBERT, R., BROWN, J.C.:

Effect of gastric inhibitory polypeptide (GIP) on
lipolys and cyclic AMP levels in isolated fat cells
Europ. J. Clin. Invest. 6, 327 (1976d)

EBERT, R., CREUTZFELDT, W., BROWN, J. C., FRERICH, H.
and ARNOLD, R.:

Response of gastric inhibitory polypeptide (GIP) to
test meal in chronic pancreatitis- relationship
to endocrine and exocrine insufficiency.

Diabetologia 12, 609-612 (1976b)

EBERT, R., CREUTZFELDT, W., TALANLICAR, M., WILLMS, B.:

Inhibition of fat, but not glucose induced re=
lease of gastric inhibitory polypeptide (GIP) by
insulin or glucose.

Diabetologia 15, 229 (1978)

EBERT, R., FRERICH, H. and CREUTZFELDT, W.:

Serum gastric inhibitory polypeptide (GIP) res=
ponse in patients with maturity onset diabetes
and in juvenile diabetics.

Diabetologia 12, 388 (1976a)

EBERT, R., WILLMS, B., BROWN, J. C., CREUTZFELDT, W.:

Serum gastric inhibitory polypeptide (GIP) levels
in obese subjects and after weight reduction.

Eur. J. Clin. Invest. 6, 327 (1976c)

ELRICK, H., STIMMLER, C., HLAD, C. J. and ARAI, Y.:

Plasma insulin response to oral and intravenous
glucose administration

J. Clin. End. 24, 1076-1082 (1964)

FALCONER, D. S.:

Genetic aspects of breeding methods in: UFAU
handbook on the care and management of laboratory
animals.

E. and S. LIVINGSTONE Ltd. Edinburgh and London
(1967)

FALKO, J.E., CROCKETT, S.E., CATALAND, S., MAZZAFERRI, E.L.:
Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulated
by fat ingestion in man.
J. Clin. End. Metab. 41, 260-265 (1975)

FARQUHAR, J.W., FRANK, A., GROSS, R.C., REAVEN, G.M.:
Glucose, insulin and triglyceride response to
high and low carbohydrate diets in man.
J. Clin. Invest. 45, 1648-1656 (1966) 2

FAULHABER, J.D., DITSCHUNEIT, H.H., DITSCHUNEIT, H.,
PFEIFFER, E.F.:
Antilipolytic effect of insulin on isolated human
adipose cells in relation to the size.
Diabetologia 6, 73 (1970)

FUJIMOTO, W.Y., ENSINCK, J.W., MERCHANT, F.W., WILLIAMS, R.H.,
SMITH, P.H. and JOHNSON, D.G.:
Stimulation by gastric inhibitory polypeptide of
insulin and glucagon secretion by rat islet cultures
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 157, 89-93 (1978)

GALASKE, R.G., GÄRTNER, K. and STOLTE, H.:
Functional and morphological study on the onset
of proteinuria in experimental diabetes mellitus
Contr. Nephrol. 1, 69-79 (1975)

GÄRTNER, K., FRIEDEL, R., KETTENDÖRFER, H., RICHTER, K.-D.,
TRAUTSCHOLD, I., GAUDSZUHN, D. and SCHWEIZER, L.:
V. International Congress of Endocrinology, Hamburg
1976, Abstract volume, Abstr. No. 236

GÄRTNER, K., PFAFF, J.:
The forestomach in rats and mice, a food store
without bacterial protein digestion.
Zentralblatt für Veterinärmedizin, im Druck

GEPTS,W.:

Pathologie anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus

Diabetes 14, 619-633 (1965)

GEPTS,W.:

Endokrines Zellsystem des Pankreas

Verh. Dtsch. Ges. Path. 61, 55-66 (1977)

GEPTS,W. and DE MEY,J.:

Islet cell survival determined by morphology.

An immunocytochemical study of the islets of Langerhans in juvenile diabetes mellitus.

Diabetes 27 (Suppl. 1), 251-261 (1978)

GREY,N.D.,KIPNIS,M.:

Effect of diet composition on the hyperinsulinemia of obesity

New Engl. J. Med. 285, 827-831 (1971)

GRODSKY,G.M.,CURRY,D.L.,LANDAHL,H.,BENNETT,L.L.:

Further studies on the dynamic aspects of insulin release in vitro with evidence for a two-compartmental storage system

Acta Diabet. Lat. 6, Suppl. 1, 554-579 (1969)

HAFFEN,K.,KEDINGER,M.,GRENIER,J.F. and MOODY,A.J.:

Comparative effect of gut extract, GIP and glucagon on insulin production by isolated pancreatic mouse islets, cultured in vitro.

First Intern. Symp. on hormonal receptors in digestive tract

Physiologie, INSERM Symposium No 3, Eds. BONFILS et al. p. 331-332, Elsevier/North-Holland Bio-medical Press (1977)

HACKEL,D.B.,MIKAT,E.,LEBOVITZ,H.E.,SCHMIDT-NIELSEN,K.,
HORTON,E.S., and KINNEY,T.D.:

The sand rat (*Psammomys obesus*) as an experimental
animal in studies of diabetes mellitus.

Diabetologia 3, 130-134 (1967)

HELLERSTRÖM,C.,HELLMAN,B.:

The islets of Langerhans in yellow obese mice.

Metabolism 12, 527-536 (1963)

HELLMAN,B.,BROLIN,S.,HELLERSTRÖM,C.,HELLMAN,K.:

The distribution pattern of the pancreatic islet
volume in normal and hyperglycemic mice.

Acta Endocr, 36, 609-616 (1961)

HERBERG,L.:

Die spontan-diabetischen Tiere in: Handbuch der inneren
Medizin, hsg. H.SCHWIEGTE, Bd. 7/2A, p. 562-636

Springer Verlag Berlin-Heidelberg-NewYork (1975)

HERBERG,L.,BERGER,M.,BUCHMANN,K.D.,GRIES,F.A.,KERN,H.:

Tiermodelle in der Diabetesforschung: metabolische
und hormonelle Besonderheiten.

Z. Versuchstierk. 18, 91-105 (1976)

HERBERG,L.,BERGER,M.,GRIES,F.A.:

Comparative investigations on lipolysis and re-esterification
in adipose tissue of man and various species of mice.

Comp. Biochem. Physiol. 48A, 163-173 (1974)

HERBERG,L.,COLEMAN,D.L.:

Laboratory animals exhibiting obesity and diabetes syndroms

Progr. in Endocr. and Metabol. 26/1,59-99 (1977)

HERBERG, L., MAJOR, E., HENNINGS, U., GRÜNKLEE, D., FREYTAG, G.,
GRIES, F. A.:

Differences in the development of the obese-hyperglycemic
syndrome on obob and NZO mice.

Diabetologia 6, 292-299 (1970)

HINZ, M., SCHATZ, H., MAIER, V., NIERLE, C., PFEIFFER, E. F.:

Untersuchungen zum Einfluß von Hormonen der Insulinsekretion
auf die Insulinbiosynthese. in: 7. Karlsburger Symposium
über Diabetesfragen, eds. H. Bibergeil, H. Fiedler, U. Poser,
Karlsburg 1971, p. 100-105

HUMMEL, K. P., DICKIE, M. M., COLEMAN, D. L.:

Diabetes, a new mutation in the mouse.

Science 153, 1127-1128 (1966)

KAISER, R., GOTTSCHALK, G.:

Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten. Soforthilfe
für statistische Tests mit wenigen Meßdaten.

B. J. - Wissenschaftsverlag, Mannheim-Wien-Zürich 1972

KALOPISSIS, A. D., GIRARD, A. and GRIGLIO, S.:

Diurnal variations of plasma lipoproteins and liver
lipids in rats fed starch sucrose or fat.

Horm. Metab. Res. 11, 118-122 (1979)

KANETO, A., KANETO, T., KAJINUMA, H. and KOSAKA, K.:

Effect of vasoactive intestinal polypeptide infused
intrapancratically on glucagon and insulin secretion.

Metabolism 26, 781-786 (1977)

KARAM, J. H., GRODSKY, G. M., FORSHAM, P. H.:

Excessive insulin response to glucose in obese subjects

Diabetes 12, 197-204 (1963)

KETTENDÖRFER, H.:

Untersuchung über Krankheitsentwicklung, Altersverlauf
und Körperzusammensetzung bei Mäusen mit hereditär
bedingtem latenten Diabetes (gg-diab).

Diss. med. vet. Hannover 1976

KISSING, J., RAPTIS, S., DOLLINGER, H., FAULHABER, J.,

ROTHENBUCHNER, G. and PFEIFFER, E. F.:

The effect of oral and intravenous administration of fat
on the function of the endocrine and exocrine pancreas
in man.

Novo-Abstr. 146

Diabetologia 9, 74 (1973)

KNICK, B. and KNICK, J.:

Zur Diätbehandlung des Erwachsenenendabetes

Ther. Umschau 33, 612-619 (1976)

KUNSTYR, I., PETERS, K. and GÄRTNER, K.:

Investigations on the function of the rat forestomach.

Laboratory Animal Science 26, 166-170 (1976)

KUO, W. N., HODGINS, D. S., KUO, J. F.:

Adenylate cyclase in islets of Langerhans. Isolation
and regulation of adenylate cyclase activity by various
hormones and agents.

J. Biol. Chem. 248, 2705-2711, (1973)

KUZIO, M., DRYBURGH, J. R., MALLOY, K. and BROWN, J. C.:

Radioimmunoassay for gastric inhibitory polypeptide.

Gastroenterology 66, 357-364 (1974)

La BARRE, J., STILL, E. V.:

Studies on the physiology of secretin. III Further
studies on the effects of secretin on the blood sugar.

Am. J. Physiol. 91, 649-653 (1930)

LACY, P.E. and KOSTIANOVSKY, M.:

Method for the isolation of intact islets of
Langerhans from the rat pancreas.

Diabetes 16, 35-39 (1967)

LARKINS, R.G.:

Defective insulin secretory response to glucose in
the New Zealand obese mouse.

Diabetes 22, 251-255 (1973)

LAUBE, H.:

Kohlenhydrate in der Ernährung

Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1976

LAUBE, H., FUSSGÄNGER, R., GOBERND, R., PFEIFFER, E.F.:

Zur Bedeutung einer isocalorischen stärke- oder
rohrzuckerreichen Nahrung auf die Insulinsekretion
und Glukoseassimilation.

Klin. Wschr. 50, 239-242 (1972)

LAUBE, H., FUSSGÄNGER, R., PFEIFFER, E.F.:

Diabetogene Wirkung einer fructosereichen Kost

3. Int. Donau Symp. Salzburg (1973), Verlag Maudrich,
Wien-München-Bern, Hsg. Beringer, p.763 (1973 a)

LAUBE, H., KLÖR, H., FUSSGÄNGER, R., PFEIFFER, E.F.:

The effect of starch, sucrose, glucose and fructose
on lipid metabolism.

Nutr. and Metabolism 15, 273-280 (1973 b)

LAUBE, H., RAPTIS, S. und PFEIFFER, E.F.:

Der Einfluß von Ernährungsfaktoren auf die Entstehung
von Fettsucht und Hyperinsulinismus.

Dtsch. Med. Wschr. 98, 1256-1259 (1973 c)

LAUBE, H., SCHATZ, H., NIERLE, C., PFEIFFER, E. F.:
Insulinsekretion und Biosynthese nach Saccharosefütterung
Europ. Diab. Kongr. (F.I.D.) München 1975

LERNMARK, A.:

Isolated mouse islets as a model for studying insulin
release.

Acta Diabet. Lat. 8, 649-679 (1971)

LEVIN, S. R., KARAM, J. H., HANE, S., GRODSKY, G. M., FORSHAM, P. H.:

Enhancement of arginine-induced insulin secretion in
man by prior administration of glucose.

Diabetes 20, 171-176 (1971)

LOWRY, O. H., ROSENBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J.:

Protein measurement with the folin phenol reagent

J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951)

MACLEAN, N. and OGILVIE, R. F.:

Quantitative estimation of the pancreatic islet tissue
in diabetic subjects.

Diabetes 4, 367-376 (1955)

MALAISSSE, W. J., MALAISSSE - LAGAE, F.:

Stimulation of insulin secretion by noncarbohydrate
metabolites.

J. Lab. Clin. Med. 72, 438-448 (1968)

MARSHALL, M. W., HILDEBRAND, H. E.:

Differences in rat strain response to three diets of
different composition.

J. Nutr. 79, 227-238 (1963)

Mc INTYRE, N., HOLDSWORTH, C. D., TURNER, D. S.:

New interpretation of oral glucose tolerance

Lancet 2, 20-21 (1964)

Mc INTYRE, N., HOLDSWORTH, C.D., TURNER, D.S.:
Intestinal factors in the control of insulin secretion
J. Clin. Endocr. 25, 1317-1324 (1965)

MEHNERT, H., SEWERING, H., REICHSTEIN, W. und VOGT, H.:
Früherfassung von Diabetikern in München 1967/68
Dtsch. Med. Wschr. 93, 2044-2050 (1968)

MEIER, H. and YERGANIAN, G.A.:
Spontaneous hereditary diabetes mellitus in Chinese
hamster (*Cricetulus griseus*). I. Pathological findings.
Proc. Soc. Exp. Biol. 100, 810-815 (1959)

MIKI, E., LIKE, A.A., STEINKE, J. and SOELDNER, J.S.:
Diabetic syndrome in Sand rats. II. Variability and
association with diet.
Diabetologia 3, 135-139 (1967)

NORFLEET, W.T., PAGLIARA, A.S., HAYMOND, M.W. and
MATSCHINSKY, F.:
Comparison of alpha- and beta- cell secretory response
in islets isolated with collagenase and in the isolated
perfused pancreas of rats.
Diabetes 24, 961-970 (1975)

OHNEDA, A., ISHII, S., HORIGOME, K., CHIBA, M., SAKAI, T., KAI, Y.,
WATANABE, K., YAMAGATA, S.:
Effect of intrapancreatic administration of vasoactive
intestinal peptide upon the release of insulin and
glucagon in dogs.
Horm. Metab. Res. 9, 447-452 (1977)

PEDERSON, R.A. and BROWN, J.C.:
The insulinotropic action of gastric inhibitory polypeptide
in the perfused isolated rat pancreas.
Endocrinology 99, 780-785 (1976)

PEDERSON, R.A. and BROWN, J.C.:

Inhibition of histamine-, pentagastrin- and insulin-stimulated canine gastric secretion by pure gastric inhibitory polypeptide.

Gastroenterology 62, 393 (1972)

PEDERSON, R.A., SCHUBERT, H.E. and BROWN, J.C.:

Gastric inhibitory polypeptide. Its physiologic release and insulinotropic action in the dog.

Diabetes 24, 1050-1056 (1975)

PENHOS, J.C., WU, C.H., CAMERINI - DAVALOS, R.A.:

Effect of several hormones on the tolerance to glucose in the non diabetic stage of KK mice.

J. Exp. Zool. 171, 209-215 (1961)

PERLEY, M., KIPNIS, D.M.:

Plasma insulin response to glucose and tolbutamide of normal weight and obese diabetic and nondiabetic subjects.

Diabetes 15, 867-874 (1966)

PFAFF, J., GÄRTNER, K., RODE, B. und GAUDSZUHN, D.:

Untersuchungen zur Heritabilität der Glukosemetabolisationsgeschwindigkeit bei der Maus.

Zbl. Vet. Med. 25, 392-405 (1978)

PFEIFFER, E.F.:

Intestinale Hormone und Insulinsekretion

Verh. Dtsch. Gesellschaft für Innere Medizin, 75, 296-315 (1969)

PFEIFFER, E.F., DITSCHUNEIT, H. und ZIEGLER, R.:
Untersuchungen zur Pathogenese des menschlichen
Altersdiabetes: Die Dynamik der Insulinsekretion des
Stoffwechselgesunden und des Altersdiabetikers nach
wiederholter Belastung mit Glukose, Sulfonylharnstoffen
und menschlichem Wachstumshormon. In: VII. Symp. Dtsch.
Ges. Endokrinol.,
Homburg/Saar, 1960, p. 206,
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961

PFEIFFER, E.F., RAPTIS, S.:
Intestinale Hormone und Insulinsekretion
Klin. Wschr. 46, 337-342 (1968)

PFEIFFER, E.F., RAPTIS, S., FUSSGÄNGER, R.:
Gastrointestinal hormones and islet function.
Handbuch Exp. Pharm. Bd. XXXIV, p.259-310
Springer, Berlin 1973

PFEIFFER, E.F., TELIB, M., AMMON, J., MELANI, F., DITSCHU-
NEIT, H.:
Direkte Stimulierung der Insulinsekretion in vitro
durch Sekretin
Dtsch. Med. Wschr. 90, 1663-1664 (1965)

POFFENBERGER, P.L., CHICK, W.L., LAVINE, R.L., SOELDNER,
J.S., and FLEWELLING, J.H.:
Insulin biosynthesis in experimental hereditary
diabetes
Diabetes 20, 677-685 (1971)

POLAK, J.M., BLOOM, S.R., KUZIO, M., BROWN, J.C., and
PEARSE, A.G.E.:
Cellular localisation of gastric inhibitory poly-
peptide in the duodenum and jejunum
Gut 14, 284-288 (1973)

RABINOVITCH, A., DUPRE, J.:

Effects of the gastric inhibitory polypeptide in
impure pancreozymin-cholecystokinin on plasma
insulin and glucagon in the rat
Endocr. 94, 1139-1144 (1974)

RAPTIS, S., DOLLINGER, H.C., SCHRÖDER, K.E., SCHLEYER, M.,
ROTHENBUCHNER, G., PFEIFFER, E.F.:

Differences in insulin, growth hormone and pancre=
atic enzyme secretion after intravenous and intra=
duodenal administration of mixed amino acids in
man.
New. Engl. J. Med. 1199-1202 (1973)

RAYFORD, P.L., MILLER, T.A., THOMPSON, J.C.:

Secretin, cholecystokinin and newer gastrointesti=
nal hormones
New. Engl. J. Med. 294, 1157-1164 (1976)

ROSS, S.A., BROWN, J.C., DUPRÉ, J.:

Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide
following oral glucose in diabetes mellitus.
Diabetes 26, 525-529 (1977)

ROSS, S.A., and DUPRÉ, J.:

Effects of ingestion of triglyceride or galactose
on secretion of gastric inhibitory polypeptide
and on response to intravenous glucose in normal
and diabetic subjects
Diabetes 27, 327-333 (1978)

RODGERS, N.W., SQUIRES, B.P., DU, E.:

Improved glucose tolerance in asymptomatic dia=
betics on diets high in simple sugar content.
Diabetes 19, 399 (1970)

SIERADZKI, J., SCHATZ, H., NIERLE, C., PFEIFFER, E.F.:
Somatostatin-induced inhibition of insulin secretion
from isolated islets of rat pancreas in the presence
of glucagon.

Horm. Metab. Res. 7, 284-287 (1975)

SILBERGERG, R., SILBERBERG, M.:

Lesions in "yellow" mice fed stock, high-fat, or
high-carbohydrate diets.

Yale J. Biol. Med. 29, 525-539 (1957)

SMITH, P.H.:

Differential localisation of glucagon- and gastric
inhibitory polypeptide (GIP)- containing cells.

Diabetes 27, Suppl. 2, 441 (1978)

STAUFFACHER, W., ORCI, L., AMHERDT, M., BURR, I.M.,

BALANT, L., FROESCH, E.R., RENOLD, A.E.:

Metabolic state, pancreatic insulin content and
 β -cell morphology of normoglycemic spiny mice
(*Acomys cahirinus*). Indications for an impaired
of insulin secretion.

Diabetologia 6, 330-342 (1970)

SCHATZ, H.:

Insulin: Biosynthese und Sekretion

Thieme Verlag, Stuttgart 1976

SCHATZ, H., HINZ, M., MAIER, V., NIERLE, C., PFEIFFER, E.F.:

Cyclic AMP and gastrointestinal hormones. Studies
in isolated pancreatic islets.

Acta Endocr. (Kbh) Suppl. 173, 125 (1973a)

SCHATZ, H., MAIER, V., HINZ, M., NIERLE, C., PFEIFFER, E.:
Stimulation of the ^3H -leucine incorporation into the
proinsulin and insulin fraction of isolated pancreatic
mouse islets in the presence of glucagon, theophylline
and cyclic AMP.
Diabetes 22, 433-441 (1973b)

SCHATZ, H., NIERLE, C. and PFEIFFER, E.F.:
(Pro-)Insulin biosynthesis and release of newly
synthesized (pro-)insulin from isolated islets of
rat pancreas in the presence of amino acids and
sulfonylureas.
Europ. J. Clin. Invest. 5, 477-485 (1975)

SCHATZ, H., OTTO, J., HINZ, M., MAIER, V., NIERLE, C.,
PFEIFFER, E.F.:
Gastrointestinal hormones and function of pancreatic
islets: Studies on insulin secretion, ^3H -leucine
incorporation and intracellular free leucine pool in
isolated pancreatic mouse islets.
Endocrinology 94, 248-253 (1974)

SCHAUDER, P., BROWN, J.C., FRERICH, H., CREUTZFELDT, W.:
Gastric inhibitory polypeptide: Effect on glucose-
induced insulin release from isolated rat pancreatic
islets in vitro.
Diabetologia 11, 483-484 (1975)

SCHAUDER, P., SCHINDLER, B., PANTEN, U., BROWN, J.C.,
FRERICH, H. and CREUTZFELDT, W.:
Insulin release from isolated rat pancreatic islets
induced by -ketoisocaproic acid, L-leucine, D-glucose
or D-glyceraldehyde: Effect of gastric inhibitory
polypeptide or glucagon.
Molec. Cell. Endocr. 7, 115-123 (1977)

SCHEBALIN, M., SAID, S. I., MAKHLOUF, M.:

Stimulation of insulin and glucagon secretion by vasoactive intestinal peptide.

Am. J. Physiol. 232, 197-200 (1977)

STEINER, D. F., KEMMLER, W., CLARK, J. L., OYER, P. E.,
RUBENSTEIN, A. H.:

The biosynthesis of insulin. In: Handbook of Physiology, Section 7, Endocrinology, Vol. 1, eds. Steiner, D. F., Freinkel, N., p. 175-198 American Physiological Society, Washington 1972

STEINER, D. F. and OYER, P. E.:

The biosynthesis of insulin and a probable precursor of insulin by an human islet cell adenoma.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 57, 473-480 (1967)

STEINLE, D.:

Der Einfluß von Sulfonylharnstoffen auf die Biosynthese und Sekretion von (Pre-)Insulin an isolierten Langerhansschen Inseln von Ratten.

Diss. med. Ulm 1976

TAMINATO, T., SEINO, Y., GOTO, Y., IJUNE, Y., KADOUAKI, S.,
MORI, K., NIZAWA, M., YAJIMA, H.:

Synthetic gastric inhibitory polypeptide. Stimulatory effect on insulin and glucagon secretion in the rat.

Diabetes 26, 480-484 (1977)

THOMAS, F. B., MAZZAFERRI, E. L., CROCKETT, S. E., MEKHJIAN, H. S.,
GRUMMER, H. D. and CATALAND, S.:

Stimulation of secretion of gastric inhibitory polypeptide and insulin by intraduodenal amino acid perfusion.

Gastroenterology 70, 523-527 (1976)

TRINDER, P.:

Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.
Ann. Clin. Biochem. 6, 24-27 (1969)

TRUEHEART, P.A., MALDONATO, A., KAELIN, D., RENOLD, A.E.,
and SHARP, G.W.G.:

Proinsulin synthesis in islets of Langerhans from
Spiny Mice (*Acomys Cahirinus*). Comparison with rats
and mice.
Diabetologia 12, 463-470 (1976)

TURNER, D.S., ETHERIDGE, L., JONES, J., MARKS, V., MELDRUM, B.,
BLOOM, S.R. and BROWN, J.C.:

The effect of the intestinal polypeptides, IRP and
GIP on insulin release and glucose tolerance in the
baboon.
Clin. Endocr. 3, 489-493 (1974b)

TURNER, D.S., ETHERIDGE, L., MARKS, V., BROWN, J.C., MUTT, V.:
Effectiveness of the intestinal polypeptide IRP, GIP,
VIP and motilin on insulin release in the rat.
Diabetologia 10, 459-463 (1974a)

TURPEINEN, O., MIETTINEN, M., KARVONEN, M.J., ROINE, P.,
PEKKARINEN, M., LEHTOSUA, E.J., ALIVIRTA, P.:

Dietary prevention of coronary heart disease;
long-term experiment.
Amer. J. Clin.Nutr. 21, 255-276 (1968)

TURTLE, J.R., LITTLETON, K.O., KIPNIS, D.M.:

Stimulation of insulin secretion by theophylline.
Nature (London) 213, 727-728 (1967)

UNGER, R.H. and EISENTRAUT, A.M.:

Entero-insular axis

Arch. Intern. Med. 123, 261-266 (1969)

WAHLEFELD, A.W.:

Triglyceride: Bestimmung nach enzymatischer Verseifung in: BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse

3. Aufl. Bd. II, Verlag Chemie, Weinheim 1974, p. 1878-1882

WESTMANN, S.:

Pathogenetic aspects of the obese-hyperglycemic syndrome in mice (genotyp obob): I. Function of the pancreatic B-cells

Diabetologia 6, 279-283 (1970)

WILLMS, B., EBERT, R. and CREUTZFELDT, W.:

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin in obesity: II. Reversal of increased response to stimulation by starvation or food restriction

Diabetologia 14, 379-387 (1978)

WINAND, J. and CHRISTOPHE, J.:

Effects of high-sucrose and high-fructose diets on non-obese and congenitally obese hyperglycemic bar harbor mice

Biblthea Nutr. Dieta 25, 83-91 (1977)

WOLLENWEBER, J., DOENECKE, P., GRETEN, H., HILD, R.,

NOBBE, F., SCHMIDT, F.H., WAGNER, E.:

Zur Häufigkeit von Hyperlipidämie, Hyperurikämie, Diabetes mellitus, Hypertonie und Übergewicht bei arterieller Verschlusskrankheit

Dtsch. Med. Wschr. 96, 103-107 (1971)

YALOW, R.S. and BERSON, S.A.:

Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.

J. Clin. Invest. 39, 1157-1175 (1960)

DANK

Erste Worte des Dankes möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Schatz, Medizinische Universitätspoliklinik Giessen, für die stete Hilfsbereitschaft und für die Betreuung der Arbeit aussprechen.

Herrn Prof. Dr. W. Kübler, Institut für Ernährungswissenschaften I, danke ich für die Übernahme des 2. Gutachtens.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des diabetologischen und endokrinologischen Labors, insbesondere Frau E. Reichel und Frau S. Ziemer.

LEBENS LAUF:

12. 11. 1954	geboren in Hünfeld
1961 - 1965	Besuch der Volksschule in Soisdorf
1965 - 1973	Besuch des Gymnasiums in Hünfeld
1973	Abitur (Naturwiss. Zweig)
1973 - 1977	Studium der Haushalts- und Ernährungswissenschaften an der JLU in Gießen
Oktober 1977	Diplomprüfung
Dezember 1978	Erstes Staatsexamen für das Lehramt an beruflichen Schulen
Juni 1979	Eheschließung mit Manfred Spiegel
seit 1977	Doktorandin in der Medizinischen Poliklinik Gießen

